

Становище

от доц. д-р Бинна Ненчева, дм, вътрешен член на научното жури, назначена със Заповед на Ректора на МУ- Варна № Р-109-27/15.01.2021г.

относно

дисертационен труд на д-рДимитър Иванов Групчев, за присъждане на образователна и научна степен „Доктор“ по научна специалност „Офталмология“, шифър 03.01.36

на тема:“Клетъчна и тъканна терапия на предна очна повърхност“

Кратки биографични данни

Д-р Димитър Иванов Групчев е роден през 1991 г в град Варна. Завършва Френска езикова гимназия Фредерик-Жолио Кюри през 2010 година, а част от обучението си е провеждал на английски език в Нова Зеландия. Медицина учи в Медицински Университет – Варна. Дипломира се през 2016 година. През същата година започва обучение в магистърска програма по здравен мениджмънт, която завършва през 2018 година с награда на Научните технически дружества за най-добра дипломна работа. Член е на множество организации между които: European Society of Cataract and Refractive Surgery, Euroretina, Association for Research in Vision and Ophthalmology, Българско дружество по офталмология, Български лекарски съюз, рег. №: 0400004244. Участвал е в множество курсове и специализации между които: Курс за специализанти в Залцбург – Австрия, индивидуално обучение в Университета в Антверпен – Белгия, лятно училище във Венеция и множество обучения в България. От 2017 година е асистент в Медицински колеж на МУ-Варна, а от 2018 година е ръководител на Учебен сектор – медицински оптик.

Актуалност на проблема

Трансплантацията е един от авангардните методи за лечение на пациенти в съвременната медицина. При някои от пациентите тя удължава и подобрява качеството им на живот, а при други представлява единствена възможност за спасяването им. Методът за лечение - трансплантация, е функционално обвързан с донорството на органи и тъкани. Тези две

явления са свързани с най-деликатната област от човешкия живот - „краят“ и „началото“.

Тези сериозни житейски теми съдържат не само етични, философски, социални, психологически и теологични проблеми. Те са обект и на много прецизно юридическо регламентиране, за да се реализират в обществото без корист, с присъщата на правото гаранция за сигурност и коректност, зад която стои държавата

Ето защо е от значение да бъдат изяснени правните възможности за донорство, за валидност на волята при даване и приемане на органи, тъкани и клетки, за юридическите рамки, в които протича процесът на трансплантация, за законовите гаранции срещу корупция, неморалност, небрежност и грешка.

Структура на научния труд

Представеният дисертационен труд притежава обема и структурата отговарящи на приетите стандарти за присъждане на НС „Доктор на науките“. Той е развит на 171 страници, включително 32 фигури, 17 таблици и 7 приложения. от които 1 стр.увод, 33 стр. литературен обзор, 1 стр. цел и задачи, 2 стр. обект на изследването и алгоритъм на изследването, 23 стр. резултати, 6 стр. обсъждане, 3 стр. изводи и приноси. Библиография - 2стр, включва 119 източника от които 4 на български.

Литературен обзор

Д-р Групчев прави исторически преглед на трансплантацията у нас и по света. Паралелно с това, разглежда и законовите основи за трансплантацията в България, както и структурата на трансплантационните бази. В литературният обзор подробно са дефинирани понятия като орган, тъкан, клетка, биопродукт, медицинско изделие и свързаните с използването им законови проблеми. Трансплантацията на роговица често се оказва единството средство за лечение при проблеми на предна очна повърхност. Като алтернатива на кератопластиката е трансплантиране на АМ. Клетките в офталмологията, като автотрансплантат, алотрансплантат и ин витро размножени лимбални стволови клетки, са също средство на избор при редица проблеми на предна очна повърхност.

Следва разглеждане на проблемите свързани с обмен на тъкани между банки в рамките на страната и извън нея. Подробното описание показва

колко затруднена е процедура по обмен на тъкани. Анализ е направен и на икономическите параметри на трансплантацията, медицински изделия и биологични продукти .

В разделът за роговица и амниотична мембрана в офталмологията, д-р Групчев разглежда подготовката за трансплантация, срокове, транспортиране, необходими изследвания, оценка на роговичната тъкан, амниотична мембрана и тяхното съхранение. Разглеждат се проблеми свързани с производство на медицинско изделие. Роговичната трансплантация, като една от най- масово използваните трансплантации която има своите положителни и отрицателни страни- реакцията на отхвърляне на трансплантата е разгледана в контекста на време, техническо изпълнение и качество на донорската роговица

Като алтернатива за намаляване на реакцията на отхвърляне е използване на послойна кератопластика-предна послойна, дълбока ендотелна с отстраняване на ендотела, дълбока автоматизирана ендотелна с отстраняване на ендотела, дълбока мембранна ендотелна кератопластика

От направения анализ на д-р Групчев става ясно ,че въпросът с трансплантацията в офталмологията и в частност с трансплантацията на амниотична мембрана с лимбални стволови клетки не е законодателно финансово и организационно уреден.

Цел: Да се направи анализ на възможностите за клетъчна и тъканна терапия на предна очна повърхност, като се приложат иновативни технологии и се тестват методики за персонализирано лечение , в резултат на което да се разработят алгоритми на тъканна обработка съобразени със специфичните условия в България

За постигането на тази цел д-р Групчев си е поставил 6 конкретни задачи.

1. Да се направи обзор на правните и икономически аспекти и законодателни разпоредби свързани с трансплантацията и в частност трансплантацията в офталмологията, както и анализ на дефинициите определени от закона в контекста на клиничната работа.
2. Да се анализират утвърдените методики за трансплантация на тъкани и клетки в офталмологията и да се направи карта за тяхното приложение в България.
3. Да се обобщят резултатите от клиничния анализ и да се формулират алгоритми за работа в областта на очната трансплантация

4. Да се анализират предимствата на съвременната триизмерна, ОСТ контролирана хирургия на предна очна повърхност.
5. Да се изготви структура и стандартни оперативни процедури с цел създаване на очна банка от ново поколение на територията на Североизточна България
6. Да се тества методика за създаване и приложение на биологични продукти и / или медицински изделия в офталмологията. Да се изработят прототипи

Материал и методи

Използвани теоретични методи: документален, метод на сравнение, графичен способ, статистически методи.

Материали: законови уредби, подзаконови уредби, публикации и издания в специализирана офталмологична литература, документация на Центъра по транслационна медицина и клетъчна терапия на МУ-Варна и “ СБОБАЛ-Варна“ ЕООД.

За оценка на клиничните методики за транспланация на тъкани и клетки в офталмологията е използван регистъра на Изпълнителна агенция „Медицински надзор“.

Разработен е въпросник – анкетирани са 100 български офталмолози.

Анализирани и актуализирани са протоколите за извършване на трансплантация на амниотична мембрана, стволови клетки и роговица.

Собствени проучвания. Резултати

Представени са протоколите за извършване на трансплантация на АМ, пенетрираща кератопластика и трансплантация на алогенни стволови клетки, на собствени стволови клетки, преработен биопродукт- алохил, приготвяне на фибриново лепило

В разделът **Методика и подготовка на амниотична мембрана и на донорска роговица**, авторът описва процесите на вземане, обработка, съхранение и разпространение на АМ, както и необходимото оборудване .

В разделът **Материал и методика за експериментални дейности и анализи**, д-р Групчев разглежда методиките за подготовка на биологичен материал- амниотична мембрана със стволови клетки, като подробно се описва подготовката, преработката и оценката на децелуларизирана АМ и лимбални стволови клетки.

В раздел **Материали и методика за работа с иновативни технологии** е разгледана работата с триизмерен микроскоп ARTEVO 800 и неговите предимства, както и iOCT. Направен е сравнителен анализ на операциите на предна очна повърхност по класически методи, контролирани с OCT 3Д микроскоп. За целта са анализирани 20 операции – трансплантации на АМ и 10 кератопластики, като половината са извършени с микроскоп LUMERA 700 и съответно с ARTEVO 800. В анализът на трансплантациите на АМ, са включени демографски характеристики, диагноза, време за извършване на операцията, интраоперативни усложнения, степен на епителизация на 2-ра седмица, зрителна острота на 4- та седмица. Същите параметри са оценени и при пациентите с кератопластика.

Разделът **Резултати от анализа на икономически, правни, социални аспекти на трансплантацията в България**, авторът разглежда структурата на тъканните банки в България, техните особености и място на пазара с оглед на качество на предлаганите продукти. Направен е анализ на динамиката на трансплантацията на тъкани в България за периода 2013-2019г. Обемът на трансплантации на роговица в различните лечебни заведения е представен табличен и графичен вид, като данните поставят въпроса за законовите основи за финансиране на тази дейност. Анализът на операциите свързани с трансплантация на АМ показва, че лидер е СБОБАЛ-Варна. От направеният анализ авторът прави следния извод: наличие на тъканна банка на територията на лечебните заведения, улеснява процеса на трансплантация, съществуващите очни банки не могат да задоволят нуждите от роговична тъкан, трансплантацията на АМ не е достатъчно популярна, липсва механизъм за реимбурсиране на трансплантация на АМ, преработката на АМ в биопродукт, може да разшири индикациите и кръга на потребители .

В разделът **Резултати от оценката на клиничните методики за трансплантация на тъкани и клетки в офталмологията** са анализирани на базата на въпросник ,който е попълнен от 38 специалиста. Данните показват ,че трансплантацията на АМ е концентрирана в София и Варна, като доминираща е трансплантацията на АМ, само 9 офталмолози извършват трансплантация на роговица. Като последната е извършена по класически техники и само 2% са случаите на предна и задна ламеларна кератопластика.

Най- голям дял за снабдяване на роговица е на Международна Очна Банка, а най- малък –на Тъканна банка към УМБАЛСМ“ Н.С.Пирогов“. По отношение на АМ, класацията води УМБАЛ“Св. Марина“- Варна.

Анализирани са протоколите за последните 3г. на извършените трансплантации на АМ, стволови клетки и роговица в СБОБАЛ-Варна. Проследени са демографските характеристики и медицински показания. В 1/3 от случаите трансплантация на АМ, е след проведено лечение. В голямата си част, трансплантацията е проведена на пациенти с роговични дистрофии, следвана от възпаление- 48, като в 7% са при случаи с перфорации на роговицата.

Анализът на данните от трансплантация на роговица, показва че най- често на тази операции са подложени пациенти с роговични дистрофии. Същевременно се отчита тенденция за намаляване на тази операция, като авторът обеснява този факт с финансови причини.

В таблица 8 е направен анализ на техниките на АМ за период от 10г. Най- голям е дела на трансплантация на АМ като покритие -1512,следвани от комбинирана техника- 328

Трансплантацията на стволови клетки, която се извършва от 1980г, минава през т.н. SLET техника, а от 2018г и „белгийска методика“. Преобладава SLET техника – с 58 ,спрямо 30 за преработени клетки.

В раздела **Алгоритми за трансплантация на роговица,амниотична мембрана и стволови клетки** са разгледани индикации, контраиндикации, подготовка на пациента, оперативна интервенция и постоперативно поведение.

Процентът на усложнения след трансплантация на АМ е 24%, като най-честа причина са хеморагия на конюнктивата,следвано от хеморагия под мембраната.

В разделът **Оценка на триизмерната ОСТ контролирана хирургия** са разгледани 20 случая на трансплантация на АМ при които е приложено сканиране с 2 и 5 линии, като се констатира ,че двата метода се допълват.

Направено е ретроспективно проучване на 20-10/10 трансплантации на АМ с конвенционален микроскоп LUMERA 700 и с триизмерна технология на ARTEVO 800 с използване на ОСТ.Сравняване на двете техники показва,

че усложненията са по-малко при използване на ARTEVO 800 с ОСТ и епителизацията е по-добра, като причини за тези факти са – пълна деепителизация на очна повърхност, по-добро полиране на базална мембрана, по-добра адаптация на трансплантата, по-прициска визуализация и намаляване на риска от засягане на съдове. Ефекта на двете технологии при издържане на роговична трансплантация, показва предимствата на триизмирната ОСТ асистирани хирургия-прецизност при обработка на зоните за трансплантация на АМ и роговица, по-добра визуализация и намаляване на усложненията, по-добри постоперативни резултати.

В следващия раздел авторът разглежда създаването на биологичен продукт-лиофилизирана АМ и децелуларизирана АМ с лабораторно отгледани лимбални стволови клетки от донорски бутон, което би помогнало за масово приложение в амбулаторни условия.

Поради законодателни и икономически трудности при разработка на медицинско изделие, авторът предлага производство на медицинско изделие.- децелуларизирана АМ със собствени стволови клетки. Последната е приложена при 30 пациента. Случаите са анализирани по редица критерии, като възраст, пол, местоживеене, диагноза, както и последователност на лечението. Анализът показва бързо намаляване на болката и подобрение на зрението.

Обсъждане

Авторът мотивира своята разработка, с подобряване на прогнозата при редицата заболявания, които водят до увреждане на роговицата и слепота и използването на иновативни терапии като решение на проблемите на тази група пациенти. Анализирайки законодателните разпоредби, авторът установява липсата на закони, които да регламентират биопродуктите, а последните разширяват терапевтичните възможности.

Тъй като АМ се използва като трансплантат, това създава редица трудности за широкото и използване-регистрация и разрешение на лечебното заведение от ИА Медицински одит, договор със здравна каса и подготвени специалисти.

Направен е сравнителен анализ на извършените роговични трансплантации в СБОБАЛ –Варна и световните тенденции с отчитане на превес на

ламерални кератопластики. Авторът акцентира върху необходимостта от създаване на банка от ново поколение. Съчетаването на нови оперативни техники и технологии са гаранция за по-добри лечебни резултати

Изводи:

1.България има потенциал за развитие на трансплантация на роговица и амниотична мембрана в офталмологията ,както и в създаване на био- аналози

2.Амниотичната мембрана може да бъде преработена в медицинско изделие и биологичен продукт с цел да разшири достъпността на тази процедура в различните лечебни заведения за третиране на пациенти със заболяване ан предна очна повърхност.

3.Създаването на трансплантат от децелуларизирана амниотична мембрана със собствени / донорски лимбални стволови клетки има важно значение за развитие на персонализираните терапии на предна очна повърхност

4.В България няма пълна законодателна уредба ,която да дефинира биологичните продукти.Законът за медицинските изделия не адресира в детайли медицинските изделия за масово производство на база биологичен материал.

5.Независимо от лидерската си позиция по отношение на амниотичната мембрана Университетските болници на МУ-Варна, имат множество юридически и икономически пречки за технологично развитие

6.Поради асиметрията във вземане и доставка на роговична тъкан е наложително функциониране на комплексна очна тъканна банка в региона на Североизточна България

7.Възможностите за развитие на терапията с амниотична мембрана и лимбални стволови клетки, са създаване на биологични продукти и медицински изделия, което ще разшири пенетрацията на тази методика.

8.Колоборативната работа с институциите на база направените анализи ще доведе до по- бързо решение на описаните проблеми.

Приноси с научно- теоретичен характер

1.Извършен е анализ на трансплантацията в България и да установени разликите с добрите практики в Европа и света

2. Извършен е анализ на техниките за трансплантация в България на роговица и амниотична мембрана, както и предимствата и недостатъците на утвърдените в България методики.

3. Анализирани са ефектите от приложение на в предносементната iOCT хирургия

Приноси с научно- приложен характер

1. Изготвена е карта за интензитета и разпространение на трансплантациите в България и се анализираха работните параметри за разпространение и употреба на донорска тъкан в офталмологията

2. Създадени са алгоритми за работа на интегрирана тъканна банка за роговица, склера, лимбални стволови клетки и амниотична мембрана

3. Създадени са прототипи и е приложен първият биопродукт за лечение на предна очна повърхност, чрез използване на лабораторно размножени лимбални стволови клетки

4. Установени са предимствата и недостатъците на триизмерната хирургия и интегрира с iOCT при оперативно лечение на преден очен сегмент

Приноси потвърдителен характер

1. Направен е анализ на публикуваната литература и са установени съвременните „добри практики“ в очната трансплантация

2. Доказани са негативните последици от предимствено извършване на пенерища кератопластика в сравнение със съвременните ламерални техники

3. Направен е анализ на регистъра към ИА „Медицински надзор“ и са установени силните и слабите страни на всички процеси по вземане, обработка, съхранение и разпространение на тъкани

Публикации по темата на дисертационния труд:

За периода на докторантурата има изнесени 5 постера и 2 презентации на международни симпозиуми. Публикациите свързани с докторантурата са 3, а общият брой на публикации е 22. Има 17 цитирания

Трансплантацията на тъкани и органи поставят пред лекар и обществото редица проблеми: Медико- биологични, етично- деонтологични, правни, философски социални и организационни.

Иновациите са изкуството на намиране на нови пътища за решаване на проблемите. Трансплантациите са отдавна известна метод за лечение, но в

настоящата дисертация те са представени в светлината на иновативен подход, включвайки амниотична мембрана и лимбални стволови клетки, създаване на биологични продукти за лечение на предна очна повърхност. Темата на дисертацията разглежда нови подходи в терапията на заболявания на предна очна повърхност- медицински продукти и изделия и породените законови ,финансови и организационни проблеми.Използване на трансплантат от децелуларизирана амниотична мембрана със собствени / донорски лимбални стволови клетки. Приносът на дисертацията е изясняване на стъпките за създаване на тъканни банки, действащо законодателство, както и протоколите с подробно описание на вземане, обработване, съхранение и транспортиране на материала,от една страна и от друга оперативните протоколи по трансплантацията им. Всичко това определя и голямата практическа стойност на тази научна разработка.

Дисертацията е завършена научна разработка и отговаря на научните критерии обозначени в Правилника за прилагане на Закона за развитие на академичния състав в МУ-Варна

Обемът на дисертацията, актуалността на проблема, както и задълбочения анализ ми дава основание да предложа на Научното жури да гласува положително за присъждане на д-р Димитър Групчев на научната степен „ДОКТОР“.

Доц.д-р Б. Ненчева дм

