

СТАНОВИЩЕ

върху дисертационен труд, представен от д-р **Радина Наскова Василева - Минкова** на тема: **„Експериментални и клинични проучвания за оценка на регенеративния потенциал на еритропоетина върху костното зарастване“**, представен за присъждане на научната и образователна степен „доктор“ по научна специалност „Ветеринарна хирургия“, професионално направление 6.4. „Ветеринарна медицина“, област на висше образование 6.0 „Аграрни науки и ветеринарна медицина“.

Изготвил становището: проф. д-р **Михаил Димитров Паскалев**, д-р, ВМФ при Тракийски университет.

Дисертацията е структурирана по утвърдените за научни трудове изисквания на общо 190 страници и съдържа разделите: заглавна страница, съдържание – 4 стр., използвани съкращения – 2 стр., увод – 2 стр., литературен обзор – 53 стр., цел и задачи – 1 стр., материал и методи – 22 стр., резултати – 40 стр., обсъждане 33 стр., изводи – 2 стр., справка за научните приноси – 2 стр., препоръки за практиката – 0.5 стр., публикации във връзка с дисертацията – 0.5 стр. и литература – 27 стр. В текста са включени и 14 таблици и 76 фигури (някои от тях цветни с отлично качество), като по-голямата част са в раздел резултати.

Актуалност на проблема. Мониторинга на костното зарастване при фрактури и костни дефекти е от съществено значение за своевременното насочване на лекуването към благоприятен изход. Често пъти в оздравителния период засегнатата кост не е в състояние да запълни тези дефекти поради редица причини (съдовоциркулаторни смущения, големина на дефекта, давност на проблема, атрофия и склероза на костта и др.). Същевременно, процесите на консолидация и структурно-функционално възстановяване на увредените кости протичат бавно и често се усложняват. В тази връзка голямо значение се отдава на методите и средствата които стимулират костната регенерация и с това възстановяват биомеханичните функции на костите.

Основните тенденции при решаването на проблема през последните години се свеждат до следното: 1) стимулиране на репаративната регенерация на костите; 2) подобряване качеството на новообразуваната кост; и 3) максимално бързо възстановяване биомеханичните функции на засегнатата кост.

Представеният дисертационният труд е посветен на тези проблеми и допринася за изясняването на някои дискуссионни въпроси, поради което определено считам, че е актуален.

Заглавието е добре формулирано и отразява съдържанието на дисертацията.

Направените бележки при предварителното обсъждане по отношение на **съкращенията** са коригирани, с което стават по-прегледни и по-разбираеми.

Литературна осведоменост. Чрез литературния обзор авторът доказва своята информираност по проблема, както в исторически, така и в съвременен аспект. Той е структуриран правилно, следва определена логична последователност. Въпреки, че дисертантката е клиницист много добре е проучена костната тъкан като структура, клетъчна морфология и метаболизъм. Механизмите на костно зарастване, както при спонтанни фрактури, така и при усложнени и такива с оформяне на костни дефекти са представени подробно и на разбираем научен език. Свойствата на използваните материали и техните ефекти са проучени на клетъчно и субклетъчно ниво. Като положителен оценявам направения критичен анализ на противоречивите тези и теории и неизяснените моменти, което авторът намира за целесъобразно да заложи в плана при разработване на дисертационния труд.

Цитирани са общо 387 литературни източника, от които 14 на кирилица и останалите на английски език. Трябва да се отбележи, че са цитирани и български автори, които са публикували на английски.

Мотивите за избора на темата и **целите и задачите** на проучванията са научно обосновани и правилно формулирани. Целта е да се проучи влиянието на еритропоетина върху регенерацията на плоски и тръбести кости с критични дефекти при плъхове и пилотно клинично изпитване при котки.

Експериментално-методическа постановка. Работата е изцяло експериментално-клинична. Проучванията са проведени при общо 92 плъха и 6 котки. Животните са разпределени в опитни и контролни групи по достатъчен брой, което предоставя възможност за математическа обработка на резултатите. Експериментите са проведени в съответствие с изискванията за хуманно отношение и са разрешени от комисия на БАБХ с разрешителни № 241/2019 год. и № 276/2020 год.

Върху диафизата на едната бедрена кост и двустранно върху калварията са направени костни дефекти с критични размери. Дефектите са запълвани с различни комбинации от костозаместител (Bio-Gen), колагенов конус (Collacone) физиологичен разтвор и еритропоетин (Binocrit) и сравнявани така, че да проличи плейотропния ефект

на еритропоетина. При две от групите (една с калвариален и една със сегментен дефект) той е прилаган интраперитонеално.

Животните са проследени чрез сполучливо подбрана констелация от клинични, хематологични, биохимични, рентгенови, компютърно-томографски, дензитометрични и хистологични методи. Апаратите са модерни, а някои от тях и последно поколение. Всичко това допринася за обективната оценка на предимствата и недостатъците на приложените средства.

Статистическият анализ е направен на базата на съвременни методи, на които може да се вярва.

Резултатите от изследванията са описани добре, като са посочени достоверните разлики, както вътре в групите, така и между групите. Високо оценявам превръщането чрез точкови скали на качествените рентгенови, компютърно-томографски и остеодензитометрични признаци в количествени с цифрово изражение и подреждането им в таблици, което позволява статистическа обработка. От получените резултати е видно, че и при двата експериментални модела, в групите, където е приложен еритропоетин се стимулира остеогенезата и особено когато се комбинира с костозаместител, като скеле за прорастване на костната тъкан. Друго достойнство на дисертацията е, че авторът пренася изследванията и върху клинични пациенти – котки. Подбраните маркери на костното формиране и костната резорбция дават добра информация за протичащите процеси на клетъчно и субклетъчно ниво. Макар и при ограничен брой животни, без контролна група за сравнение, резултатите са обнадеждаващи и дават добра основа за бъдещи проучвания.

Обсъждането е мястото, където проличават възможностите на дисертанта да синтезира и анализира получените резултати, да предполага хипотези, да сравнява собствените резултати с тези на други автори и да прави заключения. В представената дисертация това е направено компетентно и задълбочено, чрез интерпретиране на резултатите в светлината на съвременните научни достижения в тази област, изтъкване на установените нови факти и закономерности и лансирането на нови хипотези. Много добре са изяснени причините и обяснени механизмите за ранните и по-късните следоперативни процеси, отнасящи се до биохимията и хистологията на костната регенерация при използване на остеоиндуктивни средства в костни дефекти.

Изводите приемам изцяло. Те са в унисон с получените резултати, следват хронологията на изследванията, отразяват в синтезиран вид изпълнението на поставените задачи за постигането на основната цел. Авторът се е съобразил в много

голяма степен с бележките и препоръките, които бяха направени при предварителното обсъждане на дисертацията.

Научни приноси и препоръките за практиката. Чрез проведените комплексни изследвания, и успешно подбрани показатели се правят 5 оригинални и 4 потвърдителни приноси. Препоръките за практиката са полезни и биха могли да се ползват от ветеринарните лекари, занимаващи се с костна патология. С цел по-широко популяризиране на всичко направено в този дисертационен труд препоръчвам използваните методики, средства и получените резултати да станат част от една бъдеща монография.

Във връзка с дисертацията са посочени 3 публикации, едната от които е в чуждо списание и в една от тях д-р Василева е единствен автор.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В заключение считам, че получените резултати, направените изводи и препоръки, изведените оригинални и потвърдителни приноси и броят на публикациите, свързани с дисертацията, отговарят на изискванията за такъв тип научни трудове, на ЗРАСРБ и Правилника на Тракийски университет за неговото приложение. Към това трябва да се добави и обстоятелството, че в процеса на своите проучвания, авторът е усвоил методики, които биха му били полезни в бъдещата работа като изследовател, преподавател и клиницист. Поради всичко изтъкнато по-горе **ДАВАМ СВОЯ ПОЛОЖИТЕЛЕН ВОТ** за присъждане на научната и образователна степен „доктор” по научна специалност „Ветеринарна хирургия”, професионално направление „Ветеринарна медицина“ на д-р Радина Наскова Василева - Минкова.

03.02.2023 г.

гр. Стара Загора

Изготвил становището:

/проф. ДВМ

заличено съгл.

чл. 23 от ЗЗЛД

ев/

ТРАКИЙСКИ УНИВЕРСИТЕТ	
Стара Загора	
Ветеринарно медицински	
Факултет	
Вх. №:	02
Дата:	13.07.2022

STATEMENT

On the dissertation paper submitted by **Radina Naskova Vasileva – Minkova, DVM** on: „**Experimental and clinical studies for assessment of the regenerative potential of erythropoietin on bone healing**”, submitted for awarding PhD scientific and educational degree in the scientific specialty „Veterinary surgery”, professional area 6.4. „Veterinary medicine”, field of higher education 6.0 „Agricultural sciences and veterinary medicine”.

Review/Statement prepared by: prof. Mihail Dimitrov Paskalev, DVM, DSc, Faculty of Veterinary Medicine at Trakia University.

The dissertation paper is structured according to the requirements approved for scientific works on a total of 190 pages and contains the following sections: title page, table of content – 4 p., abbreviations used – 2 p., introduction – 2 p., literature review – 53 p., objective and goals – 1 p., material and methods – 22 p., results – 40 p., discussion - 33 p., conclusions – 2 p., reference about the scientific contributions – 2 p., recommendations for the practice – 0.5 p., publications related to the dissertation paper – 0.5 p. and reference – 27 p. In the text there are 14 tables and 76 figures (some of them in colour with excellent quality), the greater part of them being in the section Results.

Relevance of the problem. The monitoring of bone healing in fractures and bone defects is of great significance for the timely direction of treatment towards a favourable outcome. Frequently, during the healing period, the affected bone is not able to fill these defects due to a number of reasons (vascular circulatory disturbances, size of the defect, age of the problem, atrophy and sclerosis of the bone, etc.). At the same time, the processes of consolidation and structural-functional restoration of damaged bones proceed slowly and are often complicated. In this regard, great importance is attached to methods and means that stimulate bone regeneration and thus restore the biomechanical functions of bones.

The main trends in solving the issue in recent years are reduced to the following: 1) stimulation of reparative bone regeneration; 2) improving the quality of newly formed bone; and 3) maximum rapid recovery of the biomechanical functions of the affected bone.

The presented dissertation paper is devoted to these issues and contributes to the clarification of some disputable questions, which is why I definitely consider it relevant.

The title is well formulated and reflects the content of the dissertation paper.

The remarks made during the preliminary discussion regarding **abbreviations** have been corrected, making them clearer and more understandable.

Literature awareness. Through the literature review, the author proves her awareness of the problem, both in historical and contemporary aspects. It is structured correctly, follows a certain logical sequence. Although the PhD student is a clinician, the bone tissue has been very well studied in terms of structure, cell morphology and metabolism. The mechanisms of bone healing, both in spontaneous fractures and in complicated ones and those with the formation of bone defects, have been presented in detail and in an understandable scientific language. The properties of the materials used and their effects have been studied at the cellular and subcellular level. I appreciate as positive the critical analysis of the contradictory theses and theories and the unclear points, which the author finds appropriate to include in the plan when developing the dissertation work.

A total of 387 literature sources are cited, of which 14 are in the Cyrillic script and the rest are in English. It should be noted that Bulgarian authors who published in English have also been cited.

The **motives** for selection of the topic and the **objectives and goals** of the studies have been scientifically based and correctly formulated. The aim is to study the effect of erythropoietin on the regeneration of flat and tubular bones with critical defects in rats and a pilot clinical trial in cats.

Experimental-methodical setting. The work is entirely experimental-clinical. The studies were conducted in a total of 92 rats and 6 cats. The animals were divided into experimental and control groups in sufficient number, which provides an opportunity for mathematical processing of the results. The experiments were carried out in compliance with the requirements for animal welfare and were authorized by a committee of the BFSa with permits No. 241/2019 and No. 276/2020.

Bone defects of critical dimensions were made on the diaphysis of one femur and bilaterally on the calvaria. The defects were filled with different combinations of bone substitute (Bio-Gen), collagen cone (Collacone), saline, and erythropoietin (Binocrit) and compared to reveal the pleiotropic effect of erythropoietin. In two of the groups (one with a calvarial and one with a segmental defect) it was administered intraperitoneally.

The animals were followed by a successfully selected constellation of clinical, haematological, biochemical, X-ray, computed tomography, densitometric and histological methods. The devices are modern, and some of them are of the latest generation. All this

contributes to the objective assessment of the advantages and disadvantages of the means applied.

The statistical analysis was made on the basis of modern methods that can be trusted.

The results from the studies have been described well stating the reliable differences, both within and between groups. I do appreciate the conversion by means of point scales of the qualitative X-ray, computed tomography and osteodensitometric signs into quantitative ones with numerical expression and their arrangement in tables, which allows for statistical processing. From the results obtained, it is evident that in both experimental models, in the groups where erythropoietin was administered, osteogenesis was stimulated, and especially when combined with a bone substitute, as a scaffold for bone tissue growth. Another merit of the dissertation paper is that the author transfers the research to clinical patients - cats. The selected markers of bone formation and bone resorption provide good information about the ongoing processes at the cellular and subcellular level. Although with a limited number of animals, without a control group for comparison, the results are encouraging and provide a good basis for future studies.

The discussion is the place where the ability of the PhD student to synthesize and analyze the obtained results, to suggest hypotheses, to compare their own results with those of other authors and to draw conclusions. In the presented dissertation paper, this has been done competently and thoroughly, by interpreting the results within the light of modern scientific achievements in this field, highlighting the established new facts and regularities and launching new hypotheses. The causes and mechanisms of the early and later postoperative processes concerning the biochemistry and histology of bone regeneration when using osteoinductive agents in bone defects have been very well explained.

I totally accept the **conclusions**. They are in harmony with the results obtained, follow the chronology of the research, reflect in a synthesized form the implementation of the tasks set for the achievement of the main objective. The author has complied to a very large extent with the notes and recommendations that had been made during the preliminary discussion of the dissertation paper.

Scientific contributions and recommendations for the practice. Through the conducted complex research and successfully selected indicators, 5 original and 4 affirmative contributions are made. The recommendations for the practice are useful and could be used by veterinarians involved in bone pathology. In order to more widely popularize everything done in this dissertation paper, I do recommend the methods used, the means and the obtained results to become part of a future monograph.


In connection with the dissertation, 3 publications are indicated, one of which is in a foreign journal and in one of which Dr. Vasileva is the sole author.

CONCLUSION

In conclusion, I do reckon that the results obtained, the conclusions and recommendations made, the original and affirmative contributions made and the number of publications related to the dissertation paper comply with the requirements for this type of scientific works, of the Law on development of the academic staff in the Republic of Bulgaria and the Rules of Trakia University for its implementation. To this must be added the fact that in the process of her studies, the author has mastered methods that would be useful to her in her future work as a researcher, teacher and clinician. Due to everything mentioned above, I hereby **GIVE MY POSITIVE VOTE** for awarding the PhD scientific and educational degree in scientific specialty "Veterinary Surgery", professional area "Veterinary Medicine" to Dr. Radina Naskova Vasileva - Minkova.

03 Feb 2023
Stara Zagora

Statement/Review prepared by: ...

/prof.  /Sc/

заличено съгл.

чл. 23 от ЗЗЛД

1
....