



СТАНОВИЩЕ

от проф. д-р Анелия Миланова Кондева, д-р
Катедра по фармакология, физиология на животните, биохимия и химия,
Ветеринарномедицински факултет при Тракийски университет, Стара Загора

Относно: Дисертационен труд на тема „Проучване на употребата на хранителни добавки и на някои фактори, повлияващи витамин Д статуса при болни с Псориазис вулгарис“ за присъждане на образователната и научна степен „Доктор“ на Живка Иванова Цокева,

Област на виешо образование 7. Здравеопазване и спорт, Професионално направление 7.1 Медицина, Научна специалност „Фармакология (вкл. Фармакокинетика и химиотерапия)

Научен ръководител: Доц. д-р Мария Ганева Ганева, д-р;
Медицински факултет, Тракийски университет – Стара Загора

Представените материали по процедурата са в съответствие с Правилника за развитие на Академичния състав (ПРАС) на Тракийски университет - Стара Загора.

Характеристика на научния труд

Представеният проект на дисертационен труд на Живка Иванова Цокева е написан на 180 страници и е структуриран правилно като включва Увод от 3 стр., Литературен обзор – 46 стр., Цел и задачи – 1 стр., Материал и методи – 15 стр., Резултати – 43 стр., Дискусия – 25 стр., Изводи – 1 стр., Приноси – 1 стр., Приложения – 8 стр., Библиографска справка – 343 източника, 15 от които на български език, Списък на публикациите във връзка с дисертационния труд - 1 стр.

Дисертационният труд засяга актуален проблем относно използването на хранителни добавки и по-специално на такива, съдържащи витамин Д, като откроява слабостите в употребата им, както и възможностите за подобряване на приложението им при състояния като psoriasis vulgaris.

Представеният **литературен обзор** разглежда задълбочено проблема като се дефинира понятието „хранителна добавка“ и се разглежда законодателството, свързано с тяхното производство и употреба. Разглеждането на въпроса с употребата на хранителни добавки в Европейските страни, САЩ и България показва доброто познаване на проблема в световен мащаб. Разкриването на значимостта им в лечението на кожни заболявания и възможните лекарствени взаимодействия адекватно допълва прегледа на литературата. Следва подробно представяне на ефектите на витамин Д, вкл. и върху кожата. Изчерпателно е представен проблемът със заболяването psoriasis vulgaris и методите за лечението му, връзката му с нивата на витамин Д, както и факторите, повлияващи човешкия витамин Д статус. Така представен, обзорът компетентно въвежда в проблематиката на дисертационния труд.

Целта е ясно формулирана и поставените **задачи** позволяват постигането ѝ. По този начин се създават предпоставки за точно характеризирани на употребата на хранителни добавки при болни с psoriasis vulgaris във връзка и с фактори, повлияващи витамин Д статуса им.

Разделът с **методичната част** е описан подробно и ясно. Използвани са съвременни клинично-диагностични и лабораторни методи, които са в основата на получаване на

адекватни резултати и верни изводи. Спазени са етичните принципи при биомедицински изследвания върху хора. Значимостта на приноса на дисертационния труд се увеличава поради включване в проучването на 377 хоспитализирани болни с кожни заболявания. Контролната и експерименталната групи са правилно сформирани при спазване на добре дефинирани критерии. Разработен и валидиран е въпросник за употребата на хранителни добавки при болни с psoriasis vulgaris въз основа на съвременната литература и Европейски нормативи. Нивата на 25(OH)D са определяни по високочувствителен електрохемилюминисцентен метод. Молекулярните методи за анализ са описани по начин, позволяващ повторението им в бъдещи проучвания. Генотипирането на пациенти с psoriasis vulgaris и контролите по отношение на полиморфизми на CYP2R1 и GC гените е правилно подбрано и е основа за разбирането на механизмите на развитие на psoriasis vulgaris. Използваните статистически методи са правилно подбрани и приложени.

Резултатите логично са представени последователно в два основни раздела: проучване на употребата на хранителни добавки при хоспитализирани болни с кожни заболявания, в частност с psoriasis vulgaris и проучвания върху фактори, повлияващи витамин Д статуса на тези болни. Това улеснява оценката на ефекта от употребата на хранителни добавки върху появата и протичането на psoriasis vulgaris. Илюстрирани са в 25 фигури. Систематизирани са в 15 таблици. Адекватността на използваните анкети се отразява и на възможността за откриване на значими различия в социодемографските, антропометричните, здравни и др. характеристики на участниците в проучването. Задълбочени са резултатите, характеризиращи тенденциите в приема на хранителни добавки. Посочените резултати от анкетните проучвания са значителен принос за изясняване на отношението на пациентите към хранителните добавки и техните нагласи за приема и ефектите им. Данните показват наличието на пропуски в комуникацията с лекарите и биха могли да допринесат за отстраняването им. Предимство е наличието на възможност за диференциране на употребата на хранителни добавки между пациенти с psoriasis vulgaris и с други кожни заболявания. Умело са използвани статистическите методи за анализ, допринасящо за надеждността на данните и по-нататъшната интерпретация на резултатите. Получените резултати доказват наличието на връзка между тежестта на псориазиса и недостига на витамин Д.

Значително предимство на дисертационния труд е представянето на собствени експериментални резултати с анализ на полиморфизми по отношение на два гена (CYP2R1 и GC), с евентуална роля в проявата на разглежданото заболяване и със значение за обмяната на витамин Д, съответно. Не е установена зависимост между генотипа и средната серумна концентрация на 25(OH)D в цялата популация от изследвани пациенти. Анализът на SNP по отношение на CYP2R1 G/A (rs10741657) разкрива, че носителството на хетерозиготния AG генотип се свързва с тройно по-голям шанс за развитие на тежък дефицит на витамин Д, което представлява един от значимите резултати на база добре планираните експерименти. Умелото боравене с данните и правилният анализ на резултатите допринасят за разбиране на зависимостта на витамин Д дефицита от пола и от наличието на хронично заболяване.

Получените резултати са интерпретирани адекватно в **обсъждането**. Дискусията е стегната и дава представа за тенденциите за употреба на хранителни добавки в България в сравнение с други страни в света. За пръв път се дискутира употребата на тези добавки в страната при пациенти с кожни заболявания. Този раздел дава добра представа за най-често използваните хранителни добавки в страната сред таргетната популация пациенти. Принос е и характеризирането на нагласата на пациентите с psoriasis vulgaris да приемат

хранителни добавки, което би било в помощ на лекарите при избор на терапия и предписване на лекарства. Изключително позитивно е разкриването на редица фактори, които определят употребата на хранителни добавки. Серумният 25(ОН)D като показател за човешкия витамин Д статус е обсъден съгласно съвременната литература по въпроса. Потвърдена е връзката на нивата на витамин Д и проявата на psoriasis vulgaris чрез сравняване на резултатите и с публикувани данни. За правилната оценка на факторите, влияещи върху проявата на псориазис, допринася обсъждането на данните от молекулярните проучвания на експресията и полиморфизмите на гените CYP2R1 и GC, характеризирани като най-значими за обмяната на витамин Д.

Изводите са изключително стегнато представени като се отличават с научната си прецизност.

Отличени са пет оригинални и шест потвърдителни **приноса** с научен характер, както и два с приложен характер. Те са правилно формулирани със значимост за практиката в употребата на хранителни добавки при пациенти с psoriasis vulgaris.

Представени са четири приложения, които внасят допълнително яснота за извършените проучвания.

Библиографията съдържа съвременни литературни източници във връзка с разглеждания проблем.

Публикационната активност, свързана с дисертацията включва три статии, една от които в списание с IF. Дисертантът е водещ автор и на трите статии, което показва значимия принос в проучванията. Резултатите са представени на пет научни форума в страната и чужбина. Осъществени са и два научни проекта във връзка с дисертацията. Публикациите напълно отговарят на критериите за придобиване на ОНС „Доктор“.

Авторефератът е написан на 61 страници, включва необходимите раздели и представя точно съдържанието на дисертационния труд.

Заклучение

След разглеждане на предоставените материали по процедурата и подробно запознаване с дисертационния труд считам, че те отговарят на всички изисквания на Закона за развитие на академичния състав в Република България (ЗРАСРБ), Правилника за прилагане на ЗРАСРБ и ПРАС-ТрУ Стара Загора, за присъждане на образователната и научна степен „Доктор“. Оценявам положително проведените проучвания и базираните на тях дисертационен труд и автореферат, приемам направените изводи и приноси. Убедено гласувам „За“ присъждане на ОНС „Доктор“ на Живка Иванова Цокева в област на висшето образование 7. „Здравеопазване и спорт“, професионално направление 7.1 „Медицина“, научна специалност „Фармакология (вкл. Фармакокинетика и химиотерапия)“. Предлагам на уважаемото жури да подкрепи присъждането на научната степен.

09.10.2022 г.

Член на научно жури :

(Проф. Анелия Миланова, двмн)



SHORT ACADEMIC REVIEW

By prof. Aneliya Milanova Kondeva, DVM, D.Sc.
Department of Pharmacology, Animal Physiology, Biochemistry and Chemistry,
Faculty of Veterinary Medicine, Trakia University, Stara Zagora

Regarding: PhD Thesis with topic „A study of dietary supplements use and of some factors affecting vitamin D status with Psoriasis vulgaris“
for the award of the educational and scientific degree “PhD”
of Zhivka Ivanova Tsokeva

Field of Higher Education 7. Health and sport, Professional field 7.1 Medicine, Scientific specialty „Pharmacology (including Pharmacokinetics and chemotherapy)

Scientific supervisor: Assoc. prof. dr. Mariya Ganeva Ganeva, PhD;
Medical Faculty, Trakia University – Stara Zagora

The submitted materials for the procedure are in accordance with the Regulations for the Development of the Academic Staff of Thrakia University - Stara Zagora.

Characteristics of the PhD thesis

The presented project of the PhD thesis of Zhivka Ivanova Tsokeva is written on 180 pages and it is correctly structured. It includes the following parts: Introduction of 3 pages, Literature review - 46 pages, Aim and tasks - 1 page, Material and methods - 15 pages, Results - 43 pages, Discussion - 25 pages, Conclusions - 1 page, Scientific Contributions - 1 page, Appendices - 8 pages, References - 343 sources, 15 of which in Bulgarian language, List of publications in relation to the PhD thesis - 1 page.

The PhD thesis concerns a problem related to the use of food supplements and in particular those containing vitamin D, highlighting weaknesses in their use as well as opportunities to improve their use in conditions such as psoriasis vulgaris.

The presented **review of the literature** describes the problem in dept. It defined the concept of "food supplement" and review the legislation related to the production and use of the food supplements. Presentation of the issue of the use of food additives in European countries, the USA and Bulgaria shows the good knowledge of the problem on a global scale. The introduction reveals their significance in the treatment of skin diseases and possible food supplements-drug interactions. This information increases the value of the review. Further, follows a comprehensive presentation of the effects of vitamin D, incl. the effects on the skin. The disease psoriasis vulgaris, the methods for its treatment, the relation to vitamin D levels, and the factors affecting vitamin D status in human are presented in depth. The presented review competently introduces the issues of the PhD thesis.

The **aim** is clearly formulated and the tasks enable its achievement. This is a prerequisite for accurate characterization of the use of food supplements in patients with psoriasis vulgaris, including in relation to factors influencing vitamin D status of these patients.

The section **Material and methods** clearly and in detail describes the used materials and methods. Modern clinical-diagnostic and laboratory methods were used, which are the basis of obtaining adequate results and correct conclusions. Ethical principles in biomedical research on humans have been followed. The significance of the contribution of the dissertation is increased due to the inclusion in the study of 377 hospitalized patients with skin diseases. The control and

experimental groups were properly formed, in compliance with well-defined criteria. A questionnaire on the use of food supplements in patients with psoriasis vulgaris was developed and validated based on contemporary literature and European legislation. The levels of 25(OH)D were determined by a highly sensitive electrochemiluminescence method. Molecular methods of analysis were well described which allows their reproduction in future studies. The genotyping of psoriasis vulgaris patients and the controls regarding polymorphisms in the CYP2R1 and GC genes was well selected and it is a basis for understanding the mechanisms of development of psoriasis vulgaris. The statistical methods used were properly selected.

The results were logically presented, sequentially in two main sections: a study of the use of food supplements in hospitalized patients with skin diseases, in particular with psoriasis vulgaris, and studies on factors influencing the vitamin D status of these patients. This facilitates the assessment of the effect of the use of food supplement on the onset and course of psoriasis vulgaris. They were illustrated in 25 figures and were systematized in 15 tables. The adequacy of the used surveys allows detection of significant differences in sociodemographic, anthropometric, health, etc. characteristics of the participants in the study. The trends in the intake of food supplements were characterized in-depth in this section. The presented results from the studies based on questionnaires are a significant contribution to clarification of the attitude of patients towards food supplements, their intake and effects. The data show the presence of gaps in communication with the physicians and could contribute to their elimination. An advantage is the possibility for differentiation the use of food supplements between patients with psoriasis vulgaris and with other skin diseases. Statistical methods were skilfully used and contributed to the reliability of the data and the further interpretation of the results. The obtained results prove the existence of a relationship between the severity of psoriasis and vitamin D deficiency.

A significant advantage of the PhD thesis is the presentation of own experimental results with the analysis of polymorphisms of two genes (CYP2R1 and GC), with a possible role in the manifestation of psoriasis vulgaris and with relevance for vitamin D metabolism, respectively. No relationship was found between the genotype and the mean serum concentration of 25(OH)D in the studied population. SNP analysis of CYP2R1 G/A (rs10741657) revealed that carrying the heterozygous AG genotype was associated with a three-fold higher chance of developing severe vitamin D deficiency, which was one of the significant results of well-designed experiments. The skilful handling of the data and the correct analysis of the results contribute to understanding the dependence of vitamin D deficiency on gender and on the presence of a chronic disease.

The obtained results were properly interpreted in **the Discussion**. This section is concise and provides insight into the trends in the use of food supplements in Bulgaria in comparison to other countries in the world. For the first time, the use of these supplements in the country in patients with skin diseases has been discussed. This section well described the most frequently used food supplements in the country among the target population of patients. A contribution is characterization of the attitude of patients with psoriasis vulgaris to take food supplements, which would help physicians in making a choice of the therapy and in prescribing drugs. The discovery of a number of factors that determine the use of food supplements is extremely positive. Serum 25(OH)D as an indicator of human vitamin D status has been discussed according to the current literature on the topic. The association between vitamin D levels and the manifestation of psoriasis vulgaris was confirmed by comparing the results with published data. The discussion of the data from the molecular studies of the expression and polymorphisms of the CYP2R1 and GC genes, characterized as the most important for vitamin D metabolism, contributes to the correct assessment of the factors influencing the manifestation of psoriasis

The discussion of the data from the molecular.

The conclusions were concisely presented with a scientific precision.

Five original **scientific contributions**, six scientific contributions with confirmatory character and two scientific-applied contributions were defined. They were correctly defined and with a significance for the practice of the use of food supplements in patients with psoriasis vulgaris.

Four applications were presented which shed more light on the performed studies.

The References are contemporary and they are closely related to the topic of the PhD thesis.

Publication activity. Three articles related to the PhD thesis were presented at the end. One of the articles has IF. Publication activity The PhD student was the leading author of all three articles, indicating significant contributions to the studies. The results were presented at five scientific forums in the Bulgaria and abroad. Two scientific projects, related to the topic, were also carried out. The publications fully meet the criteria for acquiring the educational and scientific degree "PhD".

The Summary was written on 61 pages and includes the required sections and presents accurately the content of the PhD thesis.

Conclusion

After reviewing the presented materials in relation to the procedure and the PhD thesis, it can be concluded that they meet all the requirements of the Law on the Development of the Academic Staff in the Republic of Bulgaria, the Regulations for the Implementation of this law in the Republic of Bulgaria and in Trakia University - Stara Zagora, for awarding the educational and scientific degree "PhD". The conducted investigations, the based on them PhD thesis and its summary, the conclusions and the contributions can be positively evaluated. I vote "Yes", with full confidence, for awarding of the educational and scientific degree "PhD" to Zhivka Ivanova Tsokeva in the field of higher education 7. "Health and sports", professional direction 7.1 "Medicine", scientific specialty "Pharmacology (incl. Pharmacokinetics and chemotherapy)". I propose to the respected jury to support the awarding of the PhD degree.

09 October 2022 г.

A member of the Scientific board:
(Prof. Aneliya Milanova, D.Sc.)