

До председателя на Научното жури,
назначено със заповед № Р - 109 –168 / 22.05.2024 година
на Ректора на МУ Варна

Рецензия

От проф. д-р Иванка Илиева Костадинова, дм
Адрес и контакт: град Пловдив -4000, бул. „Марица“ № 136, вх.А, ет.1, ап.2,
Електронен адрес: gulabche@yahoo.com, тел. 0889 207 316

ОТНОСНО:

Дисертационен труд на тема: „Фармакологични проучвания с анетол в експериментален модел на затлъстяване“

Автор: Д-р Елис Рафаилова Гасанзадеева

Форма на обучение – докторант в редовна форма, катедра „Фармакология, клинична фармакология и терапия“, МУ Варна, зачислена по докторска програма „Фармакология (вкл. Фармакокинетика и химиотерапия)“ за придобиване на ОНС „Доктор“ ,

Професионално направление: 7.1 Медицина

Научен ръководител: Проф. д-р Стефка Василева Вълчева-Кузманова, д.м.н.

Процедура по защита:

Съгласно Заповед № Р-109- 168 / 22.05.2024 г. на Ректора на МУ – Варна съм назначена за член на Научното жури за присъждане на образователна и научна степен „Доктор“ по научна специалност „ Фармакология (вкл. фармакокинетика и химиотерапия)“ на д-р Елис Рафаилова Гасанзадеева.

Д-р Елис Рафаилва е зачислена със Заповед Р-109-450 / 28.10.2020 на Ректора на МУ-Варна на основание на доклад вх. №102 – 2384/07.10.2020 год. от проф. д-р Стефка Кузманова, ръководител на катедра Фармакология и клинична фармакология и терапия на МФ при МУ Варна и решение по протокол №30/12.10.2020 година на факултетния съвет на МФ при МУ Варна за докторант в редовна форма в докторска програма „Фармакология (вкл. Фармакокинетика и химиотерапия)“. Етапите на докторантурата за допускане до публична защитата са спазени и докторантът е отчислен по предложение на проведено заседание на Катедрен съвет на катедра „Фармакология, клинична фармакология и фармакотерапия, съгласно чл. 61, ал. 1 и ал. 2 от Правилника за развитие на академичния състав в МУ – Варна. По процедурата за защитата д-р Рафаилова е представила всички необходими материали, съгласно изискванията на Правилник за развитие на академичния състав на МУ–Варна. Настоящата рецензия е разработена и представена съобразно изискванията на Закона за развитие на академичния състав на Република България, Правилника за прилагането му и Правилника за развитие на академичния състав в Медицински университет /МУ/ - Варна. Декларирам, че нямам конфликт на интереси с автора на дисертационния труд.

Кратки биографични данни и професионално развитие

Д-р Елиз Рафаилова Гасанзадеева е родена на 15.03.1993 година в град Шумен. През 2012 година завършва средното си образование в ГПЧЕ „Н.Й.Вапцаров“, гр.Шумен. През май 2018 година се дипломира като магистър по медицина в МУ „Проф.Параскев Стоянов“ град Варна.(диплома за висше образование рег.№ 005891/01.11.2028 годин). По време на обучението си в МУ Варна е провела през периода март юли 2014 година практическо обучение в МБАЛ „Света Ана“, Първа клиника по хирургия като стажант по проект „Студенски практики“. От юни до октомври 2017 година д-р Рафаилова е провела практическо обучение в МБАЛ „Света Ана“, Ендоскопски кабинет по проект „Студентски практики“. Тя е демонстратор в МУ-Варна, Катедра по Фармакология, клинична фармакология и фармакотерапия за периода февруари 2018 до май 2018 година. От януари 2019 до март 2019 тя работи като лекар в отделение по медицинска онкология в УМБАЛ „Дева Мария“ гр.Бургас. От март 2019 до октомври 2019 година д-р Рафаилова е хоноруван асистент в МУ-Варна, катедра по Фармакология, клинична фармакология и

фармакотерапия. От октомври 2019 година и до момента тя е асистент в същата катедра. Д-р Рафаилова е провела краткосрочна специализация в Ovidius university, 24.07-4.08.2023, в Констанца, Румъния. Има заавършен курс по защита и хуманно отношение към опитните животни, използвани за научни или образователни цели. В автобиографията си тя е посочила общ брой на научни публикации 19 и 2 цитирания. Владее на много добро ниво писмено и говоримо английски език и на добро ниво руски език. Членува в Българско дружество по Фармакология, клинична фармакология и терапия и Европейска асоциация по клинична фармакология и терапия (ЕАСРТ).

Структура на дисертационния труд

Дисертационният труд на д-р Рафаилова е представен в 157 страници, съдържа 40 фигури и 27 таблици. Включва: съдържание (7 стр.), съкращения (1 стр.), въведение (2 стр.), литературен обзор (34 стр.), цел и задачи (2 стр.), материали и методи (9 стр.), собствени резултати и обсъждане (71 стр.), изводи (4 стр.), приноси (1 стр.), списък на публикациите и участията, свързани с дисертационния труд (4 стр.) библиография (23 стр.). В книгописа са отбелязани 309 литературни източника, от които 2 на кирилица и 307 на латиница. От последните 5 години са използвани 130 източника (41,80%), което е доказателство за актуалността на темата на дисертационния труд и направените изводи и обобщения на получените резултати.

Актуалност и значимост на дисертационния труд

Темата на дисертационния труд е актуална, защото е свързана със социално значимо заболяване като затлъстяване. Затлъстяването е една от водещите причини за предотвратима смърт като драстично намалява не само цялостното качество на живот на човека, но и продължителността на живота му. Затлъстяването поставя хората в по-висок риск от диабет, сърдечни заболявания и някои видове рак. Допълнителните рискове за здравето включват остеоартрит, сънна апнея, бъбречни заболявания, инсулти и високо кръвно налягане. Бременните жени, които са с наднормено тегло, могат да страдат от усложнения, които могат да доведат до здравословни проблеми за майката или детето.

Затлъстяването може да се използва като основен общ здравен показател за населението защото води до здравни проблеми. По света повече от 1,9 милиарда души от възрастното население страда от наднормено тегло, като от тях 650 милиона са със затлъстяване. В България 61% от населението над 18 годишна възраст е с наднормено тегло,

а около 20% – със затлъстяване. Най-значителни промени в статистиката на затлъстяването се наблюдават в периода след 2016 г., като данните сочат затлъстяване при до 39% от световното население, повишаване на броя на хората в света с наднормено тегло. Според глобално проучване на затлъстяването в 195 страни, направено през 2015 г., 604 милиона възрастни и 108 милиона деца са били с наднормено тегло. От 1980 г. разпространението на затлъстяването се е удвоило в 73 страни и се увеличило в повечето други страни. Степента на нарастване е по-голяма при детското затлъстяване. Честотата на метаболитен синдром често е съпоставима с честотата на затлъстяването и честотата на диабет тип 2. Най-голямото увеличение на разпространението на затлъстяването при млади мъже (25–29 години) се наблюдава в страни с нисък социално-икономически индекс. През последните три десетилетия разпространението се е увеличило от 1,1% през 1980 г. до 3,85 през 2015 г. Между 1990 г. и 2015 г. глобалната смъртност, свързана с висок ИТМ, се е увеличила с 28,3%. В предклиничните и клинични проучвания, свързани със затлъстяването са регистрирани противоречиви и неизяснени данни, свързани с влияние на различни фактори и лекарствени продукти върху затлъстяването в световен мащаб. Предимство на природните продукти в терапията на затлъстяването са уникалните химически структури, които са в основата на създаване на лекарствени продукти. Само около 5 до 15% от 250000 видове растения са изследвани химически и фармакологично. Около 63% от лекарствените продукти са от растителни източници, които могат да бъдат изследвани за нови активни съставки. Търсенето и проучването на комбинации от растителни източници е с предимство пред синтезирането на нови лекарствени молекули, защото според СЗО около 80% от населението на света използва за профилактика и лечение лекарствени продукти от растителен произход. Тези продукти имат лесен и удобен начин на приложение, което осигурява по-добро участие на пациента в профилактиката и лечението на различни социално значими заболявания.

Във въведението на дисертационния труд „Фармакологични проучвания с анетол в експериментален модел на затлъстяване“ д-р Рафаилова посочва актуалността на проблема. Докторантката отбелязва единично проучване на Noreen et al., 2024 за ефектите на монотерпена анетол при затлъстяване. Това определя необходимостта от по-задълбочено проучване на анетол върху модел на затлъстяването.

В литературния обзор д-р Рафаилова представя световните научни постижения по темата на дисертационния труд. Разгледани са дефиниция на затлъстяването и факторите, водещи до затлъстяване. В „Епидемиология на затлъстяването“ е посочено, че според СЗО затлъстяването убива 4 милиона души всяка година. До 2035 година икономическите последици от затлъстяването годишно ще надхвърлят 800 милиарда щатски долара. Подробно са обсъдени рисковите фактори за развитие на затлъстяването. Разгледано е влиянието на „ендокринни разрушители“, заседнал начин на живот, генетичните фактори, нарушението в енергийната хомеостаза. В достъпната литература е доказано, че генетични дефекти на лептина или на рецептора му в хипоталамуса или на меланокортин 4- рецептор водят до затлъстяване. Обсъдено е значението на централното (висцерално) затлъстяване и периферното такова. Интерес представлява съществуващата положителна корелация между ИТМ и повишението на систоличното и диастоличното налягане, съдови увреждания и развитието на сърдечна недостатъчност. В обзора са посочени промените във функцията на храносмилателната, отделителната и нервната системи при затлъстяване и рисковете за здравето и качеството на живота. Обсъдени са данните на Grant et al. 2020 година, че затлъстяването повишава вероятността от развитието на тумори, връзката между маркерите за оксидативно увреждане на ДНК и по-високи нива на телесни мазнини, по-бързото стареене на генома и повишеният риск от развитие на неоплазми. Представяват интерес данните за връзката между затлъстяването, инфекциозните заболявания и COVID-19. Д-р Рафаилова подробно е разгледала методите за лечение на затлъстяването. В раздел „Фармакологично лечение“ на затлъстяването са разгледани подробно фармакодинамичните особености на Phentermine, Phentermine/Topiramate, Orlistat, Lorcaserin, GLP-1 агонисти, Naltrexone/bupropion, ползата и риска от приложението им при медикаментозно лечение на затлъстяването. В раздела „Нефармакологично лечение“ на затлъстяването д-р Рафаилова разглежда предимствата и недостатъците при използването на диети, транскраниална стимулация с постоянен ток, когнитивно-поведенчески интервенции, повишена физическа активност, хирургическо лечение на затлъстяването. Интересни факти са разгледани от докторантката в раздел 1.6 за използването на натурални продукти като монотерпени и етерични масла в комбинираната терапия на затлъстяването като лимонен, тимол, цитрол, евкалиптол, анетол, аураптен, карвакрол, паеонифлорин, иридоиди, масло от черен пипер, етерично масло от индийско орехче, *Mentha spicata*.

Подробно са описани физико-химичните характеристики на анетол, фармакокинетичните особености и фармакологичните му ефекти. Синтетично производно на анетол е в основата за разработване на невропротективни лекарства за болеста на Паркинсон. Д-р Рафаилова подробно описва експерименталните методи и модели за индукция на затлъстяване. Посочени са положителните и отрицателните страни на използваните диети като модели за затлъстяване, причината за избора на ВКД. Разгледани са моногенни и полигенни модели. Полигенните модели представят по-точна информация за биологията на затлъстяването. Те са най-използваните и по-реалистични модели за изследване на затлъстяването при хора. Споменати са хирургически методи, водещи до хипоталамично затлъстяване и използването на електромагнитно лъчение за активиране или инхибиране на йонни канали. От обстойния литературен преглед, начина на изложение, компетентния и критичен анализ на данните проличава компетентното отношение на д-р Рафаилова в изследваната област. Много добре са отделени и разгледани основните аспекти на дисертационния труд, което улеснява читателя да премине към произтичащата цел и задачи.

Целта на дисертационния труд е да се изследват и обобщат фармакологичните ефекти на анетол, приложен перорално в нарастващи дози при плъхове в модел на затлъстяване, индуцирано от висококалорична диета (ВКД). Целта е формулирана точно. Логично произтичащите от целта задачи са добре дефинирани, което улеснява изложението и обсъждането на резултатите. Считам, че поставената цел и задачи дават възможност за комплексно извършване на заплануваните проучвания. Основните задачи включват:

1. Да се предизвика затлъстяване при здрави експериментални животни чрез приложение на висококалорична диета (ВКД) в продължение на 10 седмици.

2. На модел да затлъстяване да се изследват ефектите на анетол върху телесното тегло, калорийния и флуиден прием, поведението, анализирайки данни за обща двигателна активност, тревожността, депресивно-подобно поведение, пространствена памет, биохимични и клинично-лабораторни показатели, показатели на антиоксидантна защита и оксидативен стрес - супероксид дисмутаза (СОД) в серум, вещества, реагиращи с тиобарбитуровата киселина в серум и тъканни хомогенати от мозък, черен дроб и сърце, тъканни индекси: мастнотъканни индекси (на ретроперитонеална, мезентериална, перигонадна, паранефрална и тотална мастна тъкан), чернодробен индекс, хистология на

черен дроб, ретроперитонеална мастна тъкан, миокард и коронарни съдове, имунохистохимични маркери за апоптоза/антиапоптоза и възпаление в черен дроб и ретроперитонеална мастна тъкан, карагенан-индуцирано остро възпаление на задна лапа. В дисертационния си труд за изпълнение на поставените задачи д-р Рафаилова е използвала съвременни, утвърдени методи за изследване. В материал и методи подробно са описани групите опитни животни и методите за изследване. Животните са разпределени в 5 групи по 10 на брой: контрола, ВКД, ВКД+62.5А, ВКД+125А и ВКД+250А. В продължение на 10 седмици животните от контролната група (К) са приемали стандартна лабораторна гранулирана храна за плъхове и обикновена питейна вода, а ВКД групите – висококалорична диета, с повишено съдържание на животински мазнини (17%) и прости захари (17%). Стандартните гранули се обогатяват със свинска мас и фруктоза. Питейната вода е заменена с 10%-ен разтвор на фруктоза при животните от ВКД групите (Gancheva et al., 2015b). Д-р Рафаилова е използвала следните поведенчески методи: тест открито поле (ТОП), тест за социално взаимодействие (ТСВ), тест за принудително плуване, тест за разпознаване мястото на предмети, биохимични и клиничко-лабораторни тестове, определяне на тъканни индекси, хистологични изследвания, имунохистохимични методи, индуциране на остро възпаление на задна лапа. Данните са обработени с подходящи статистически анализи, което осигурява достоверност на получените резултати и възможност за сравнение с тези на други автори.

В „Собствени резултати и обсъждане“ данните са обработени коректно. Те са представени и описани добре. Докторантката притежава много добри компютърни умения, които и помагат при презентирането и публикуването на получените резултати. Телесното тегло на опитните животни се намалява от доза 250 мг/кг т.м. анетол, дозата от 125 мг/кг т.м. анетол значимо повишава приема на фруктозен разтвор на прием. Анетол в изследвани дози не повлиява двигателната активност, предотвратява индуцираната от ВКД тревожност в доза 62,5 мг/кг т.м. Установено е дозозависимо подобряване на пространствената памет, значимо в групите, третирани с анетол 125 мг/кг т.м. и 250 мг/кг т.м. Анетол в най-високата доза нормализира нивата на понижената от ВКД супероксид дисмутаза в серум. Трите дози анетол нормализират повишената от ВКД липидна пероксидация в мозъка. Интересни са резултатите, които са регистрирани в изследвани от докторантката тъканни индекси. Анетол в доза 250 мг/кг т.м. понижава индекса на ретроперитонеална мастна тъкан като се

постигат нива до тези на контролата, намалява значимо размера на адипоцитите, които се доближават по размер до тези на контролата. Експресията на апоптичен маркер BAX е понижена от анетол 125 мг/ кг т.м. и повишена от анетол в доза 250 мг/ кг.т.м. От най-високата доза е повишено и съотношението BAX/BCL-2 в ретроперитонеалната мастна тъкан в сравнение с данните на групата животни на ВКД.

В черния дроб на опитните животни в сравнение с групата на ВКД се регистрира понижение на експресията на BAX от най-високата доза анетол. Експресията на BCL-2 е понижена от трите изследвани дози анетол, като понижението е най-изразено при най-голямата доза. Съотношението BAX/BCL-2 е повишено значимо от анетол в доза 250 мг/кг т.м., докато експресията на MAC 387 е значимо понижена от анетол в доза 62,5 мг/ кг т.м. В обсъждането след резултатите д-р Рафаилова съпоставя получените резултати с тези на други автори, обсъжда възможни механизми, с които може да се обяснят регистрираните данни от експериментите. Дисертацията е написана на ясен български език.

Данните от проведените експерименти са обобщени в 13 извода с 36 подточки. Препоръчвам за презентацията резултатите да бъдат представени в обобщени таблици като се изкаже мнение с каква доза могат да продължат изследванията на фармакологичните ефекти анетол при затлъстяване. Докторантката познава много добре литературата по темата на дисертационния труд, изказва своята позиция, анализира аргументирано получените резултати .

Направените изводи могат да се използват за планиране на изследвания за изясняване на механизмите на установените фармакологични ефекти на анетол.. Проучванията в тази насока, установяването на зависимост между ефекти и доза на анетол ще подпомогнат избора на маркер за определен фармакологичен ефект, свързан с поведение, биохимични и клиничко-лабораторни показатели, антиоксидантна защита на организма, промени в тъканни индекси, изследвани от д-р Рафаилова.

Дисертацията е написана и структурирана правилно, Забелязват се малки неточности, които не могат да повлияят на положителната ми оценка за дисертационния труд на д-р Рафаилова. Целта и задачите са поставени ясно, резултатите и обсъждането са свързани логично. Изводите са точно формулирани и отговарят на данните, получени в научния експеримент. Приносите са оригинални. За първи път са получени данни за ефекти на анетол върху консумацията на храна, течности и калориен внос, поведението на плъхове,

третиран с анетол, глюкозен толеранс, липидна пероксидация в мозъка., хистологични находки в ретроперитонеалната мастна тъкан, данни за ефекти на анетол върху програмираната клетъчна смърт в ретроперитонеалната мастна тъкан и черен дроб, както и данни за намаляване на експресията на възпалителния маркер MAC387 в черен дроб от анетол в експериментален модел на диетично индуцирано затлъстяване при плъхове. Приемам научните приноси, които реално произтичат от извършените експериментални изследвания и отразяват важни резултати, получени за първи път у нас. Научните приноси имат значителна теоретична и реална приложна стойност.

Авторефератът на дисертационния труд „Фармакологични проучвания с анетол в експериментален модел на затлъстяване“ съдържа 100 страници. Резултатите са онагледени с 28 фигури и 27 таблици. Авторефератът отразява основното съдържание на дисертационния труд и получените резултати. Спазени са изискванията, посочени в нормативните документи на МУ-Варна.

Д-р Елис Рафаилова е представила списък с 5 публикации и 14 участия в 3 международни и 11 национални форуми с международно участие, свързани с темата на дисертационния труд. За участието си в научни форуми д-р Рафаилова е била наградена във Виена през 2022 година, 35 ECNP, през 2023 година 36 ECNP в Барселона и на девети фармацевтичен форум и научно-практическа конференция „Факултет Фармация“, град Варна. С представените публикации д-р Рафаилова покрива изисквания на МУ Варна за ОНС „Доктор“. Д-р Рафаилова притежава качества и умения за самостоятелно провеждане на научни проучвания и работа в екип. Може да се направи заключението, че представените публикации и дисертационен труд са лична заслуга на докторанта.

Д-р Рафаилова има теоретични познания и практически умения за научна работа. Тя може да борава свободно с фактите от достъпната ѝ литература, изказва и защитава аргументирано собствената си позиция, сравнява и съпоставя данните от проведеното проучване с тези на други автори като търси причините за приликите и различията между тях.

Заключение

Комплексната ми оценка за представения дисертационен труд на тема „Фармакологично проучване с анетол в експериментален модел на затлъстяване“ на д-р Елис Рафаилова Гасанзадева е положителна.

Актуалността на проблема, отличното познаване на разглежданите въпроси, възможността за интерпретация и съпоставка на получените резултати с данни от експериментални изследвания на други автори, изказаните хипотези, изводите и приносите с теоретично и практическо значение ми дават основание да оценя положително проведеното изследване, представено от рецензираните по-горе дисертационен труд, автореферат, постигнати резултати и приноси. Трябва да се отдаде значимото на научния ръководител на докторантката проф. д-р Стефка Кузманова, дмн и на ръководителя на катедрата доц. д-р Силвия Ганчева Маринова, дм за създадените отлични възможности за научни изследвания в катедрата, за професионализма и качествата им на ръководители, за екипа от млади и интусиазирани преподаватели, които искат да се развиват, за работната среда и отношения в катедрата, които допринасят за успехите им в науката.

Представеният дисертационен труд и приложените публикации покриват изискванията на ЗРАСРБ и Правилника на МУ Варна в област на висше образование 7.0 Здравеопазване и спорт, професионално направление 7.1. Медицина“, докторска програма „Фармакология (вкл. фармакокинетика и химиотерапия)“ за образователната и научна степен „Доктор“.

Въз основа на подробно изложените положителни страни на дисертационния труд, убедено препоръчвам на почитаемото научно жури да гласува положително за присъждане на образователно-научната степен „Доктор“ на д-р Елис Рафаилова Гасанзадеева по докторска програма „Фармакология (вкл. фармакокинетика и химиотерапия)“

Заличено на основание чл. 5,
§1, б. „В“ от Регламент (ЕС)
2016/679

Рецензент:.....

Проф. д-р Иванка Костадинова, дм