

РЕЦЕНЗИЯ

От доц. д-р Радко Златков Радев, дм
доцент в УС по патофизиология,
Катедра по физиология и патофизиология

на дисертационен труд за присъждане на образователна и научна степен „доктор“
Професионално направление 7.1. Медицина, докторска програма „Патофизиология“

Автор: д-р Дария Леонидовна Чивчибаши-Павлова

Форма на докторантурата: самостоятелна подготовка, зачислена със заповед № Р-109-55/15.01.2018 г.

Катедра: Физиология и патофизиология, Учебен сектор по патофизиология

Тема на дисертационния труд: **ИЗСЛЕДВАНЕ НА ЕНДОТЕЛНАТА
ДИСФУНКЦИЯ ПРИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЕН МОДЕЛ НА ЗАТЛЪСТЯВАНЕ И
СУПЛЕМЕНТАЦИЯ С МЕЛАТОНИН**

Научен ръководител: Доц. Д-р Камелия Братоева, дм

Определен съм за **рецензент** по решение на първото заседание на НЖ, съгласно заповед на Р-109-85 от 23.02.2022 на Ректора на МУ-Варна проф. д-р Валентин Игнатов, дм.

Общо представяне на документацията по процедурата и докторанта

Представеният ми комплект материали на хартиен /електронен носител е в съответствие с Раздел III, Чл.69 от Правилник за развитието на академичния състав в МУ-Варна и включва всички изискуеми документи:

- заявление до Ректора за разкриване на процедура по защита и заповеди за зачисляване и отчисляване с право на защита;
- актуална автобиография с подпис на докторанта;
- списък с публикациите, свързани с темата на дисертационния труд и копия от тях;

- списък с доклади, постери и съобщения на научни форуми, свързани с дисертационния труд;
- декларации за оригиналност, за липса на претенции от съавторите и за достоверност на представените документи;
- други документи, свързани с професионалната квалификация, принадлежност и регистрация в световни бази данни;
- справка за наукометричните показатели; дисертационен труд и автореферат, оформени по изискванията;
- информационни карти за НАЦИД

Кратки биографични данни за докторанта

Д-р Дария Леонидовна Чивчибаши-Павлова е родена в гр. Рубцовск, Русия през 1985 г. Завършва Български Теоретичен Лицей „Васил Левски“ в Кишинев, Молдова през 2000 г и Медицински колеж в гр. Измаил, Украйна през 2004 г. по специалност „помощник – фармацевт“. През 2011 г. завършва в МУ-Плевен специалност „Медицина“. През 2014 г. завършва второ висше образование по специалност „Микробиология“ в Birkbeck, University of London. В периода 2014-2018 г. специализира „Обща и клинична патология“ в УМБАЛ „св. Марина“, в Катедра по „Обща и клинична патология, съдебна медицина и деонтология“ в гр. Варна. Има придобита специалност по „Обща и клинична патология“.

От 2016 до 2018 г е хоноруван асистент англоезично обучение в Катедра „Обща и клинична патология, съдебна медицина и деонтология“, а от 2017 г. е избрана и за хоноруван асистент англоезично обучение към Катедра „Физиология и патофизиология“, УС по „Патофизиология“.

След успешно положен конкурсен изпит от януари 2018 г. е редовен докторант, а от октомври 2018 г. е назначена за редовен асистент в Катедра „Физиология и патофизиология“, УС „Патофизиология“.

Владее освен майчиния си руски език и български, украински, румънски езици.

Зачислена със заповед № Р-109-55/15.01.2018 г. за докторант в УС „Патофизиология“.

Обща характеристика и оценка на дисертационния труд

Представеният ми проект за дисертация за придобиване на научната и образователна степен “Доктор” е написан в обем на 170 страници. Онагледен е с 35 фигури и 10 таблици. Цитирани са 313 литературни източника, от които 51 на кирилица и 262 на латиница. Отделните части на дисертацията са много добре балансирани като обем и съотношение и напълно съответстват на изискванията за докторска дисертация, както следва: съдържание – 3 стр.; използвани съкращения – 2 стр.; въведение – 2 стр.; литературен обзор – 56 стр.; цел и задачи – 1 стр.; материал и методи – 13 стр.; собствени резултати – 36 стр.; дискусия – 26 стр.; заключение – 1 стр.; изводи – 2 стр.; приноси – 2

стр.; публикации и съобщения, свързани с дисертационния труд – 1 стр.; библиография – 26 стр.

Актуалност на тематиката

Затлъстяването остава не достатъчно изучена болест, която се е превърнала в глобален проблем. Постоянен ръст на броя на засегнатите е довел до това, че СЗО разглежда затлъстяването като „неинфекциозна епидемия на нашето време“. Високият ръст на заболяемост представлява сериозен медико-социален проблем. Като основен патогенетичен фактор, свързващ затлъстяването с последващите компликации, се счита развитието на ендотелна дисфункция. Затова ендотелната дисфункция на фона на затлъстяване се смята за отключващ механизъм за развитие и прогресиране на ССЗ, които са водеща причина за смърт в целия свят, включително България. Социалната значимост на инвалидизиращи усложнения на ССЗ определя необходимостта за търсене на нови подходи за ранна диагностика и таргетната им корекция.. В наличната литература са представени изследвания, които са недостатъчни, за да се направи комплексна оценка за увреждането на ендотела в ранните, обратими прояви на ендотелна дисфункция. Данните от литературата са оскъдни и противоречиви, а маркерите на ендотелната дисфункция все още са слабо проучени. Ето защо изследвания в тази насока представляват предизвикателство от научна гледна точка, предвид възможностите за разработване на нов подход в терапията на свързаните с ендотелната дисфункция заболявания. Проучването на възможни ендотелопротектори с антиоксидантни и противовъзпалителни свойства би могло да разкрие вероятни механизми за протекция или корекция на вече съществуваща ендотелна дисфункция, особено при затлъстяване. Затова именно перспективно направление е възможността да се моделира ендотелна дисфункция при експериментални животни.

Познаване на проблема

Докторантката прави много задълбочен анализ на най-съществените аспекти на проблема. Затлъстяването, както и съпътстващите коморбидни състояния като артериална хипертония, атеросклероза, ИБС и др. водят до ранна инвалидизация и преждевременна смърт, изискващ незабавно решение. Според СЗО в България смъртността от кардиоваскуларни заболявания е 64% . Тези цифри налагат своевременно диагностициране на затлъстяването, както и идентифициране на асоциираните с него патологии. Съвременните методи са ограничени, в повечето случаи инвазивни и диагностицират съдовите увреждания в необратим стадий, което прави този тип проучвания изключително актуални. Обаче, по обективни причини, решение на горепосочените въпроси в условия на *in vivo* в пълен обем е невъзможно. Изхождайки от тези разсъждения, докторантката създава при експериментални условия модел на затлъстяване, както и проследяване на редица показатели, като прибавя и допълнително въздействие за тяхната промяна в положителен аспект. Всичко гореизложено ми дава основание да оценя високо не само задълбочените познания, но и творческия и аналитичен подход на авторката при изследване на проблема за да установи ранните, обратими прояви на ендотелна дисфункция и комплексната функционална връзка между

патоморфологичните промени в стената на абдоминалната аорта, както и възможни маркери на оксидативен стрес и хронично нискостепенно възпаление при фруктозо-индуциран модел на затлъстяване и суплементация с мелатонин.

Целта и произтичащите от нея пет *задачи* са правилно формулирани и съответстват напълно на изводите от литературния обзор за наличието на непълноти и недостатъчна информация относно ранните промени на ендотелната дисфункция при затлъстяване.

Материал и методи на изследването

За целите на проучването дисертантката използва експеримент, проведен върху 32 бели мъжки плъхове. Експериментът е проведен при спазване на изискванията на националните нормативни документи и европейската Директива на Европейския парламент за протекция на животните, използвани за научни и експериментални цели (Directive 2010/63/EU of the European Parliament and of the Council of 22 September 2010 on the protection of animals used for scientific purposes). Използваната храна, фармакологичните средства и други субстанции като мелатонин, воден разтвор на глюкоза, разпределението по групи на експерименталните животни, съответства на поставените задачи. За обосновка на своите очаквани хипотези, авторката ползва различни методи:

-зоометрични изследвания, като телесна маса, дължина, обиколка на корема и на гръдния кош, индекс на Лее;

-биохимични и клинично-лабораторни методи като: определяне на триглицериди, глюкоза, LDL и HDL в серума;

-имунологични методи-определяне на нивата на TNF- α в серума;

-генетични методи като: определяне на нивото на гена експресия: RT-PCR – изолиране на тотална РНК от аорта, обратна транскрипция, количествен RT-PCR;

-морфологични методи като: макроскопско изследване; хистологично изследване; имунохистохимични методи.

При статистическата обработка на резултатите д-р Леонидовна прилага: дескриптивен анализ, аналитични методи като: Т-тест, вариационен и корелационен анализ.

Този богат и разнообразен набор от методи говори за големия обем от работа осъществен от дисертантката, както и за задълбоченото познаване на възможностите с различни информативни средства да се получат необходимите познания, съгласно поставените задачи на проучването.

Резултати, обсъждане и изводи

Получените резултати са много добре представени както в текстово отношение, така и онагледени чрез подходящи и илюстративни графични и снимкови изображения. Дискусията на получените резултати е компетентна, задълбочена и критична. Направена е съпоставка между собствените резултати и тези на автори, работили по проблема през

последните години. Въз основа на направения анализ на литературните данни и собствените резултати са формулирани 13 основни извода. В тези изводи са отразени: постигнатото висцерално затлъстяване и ендотелна дисфункция (изводи №№1 и 2); ефектите на високофруктозната диета върху редица показатели - покачване на експресията на Nrf-2, SOD-1, HO-1 и инхибиране на експресията на NOS3, инхибирането на продукцията на Flt-1 (изводи №№ 3 и 4); функционална връзка между промени в зоометрични показатели, метаболитни нарушения, хронично нискостепенно възпаление и оксидативен стрес и промени в стената на абдоминалната аорта (изводи №№ 5 и 6). На тази база д-р Леонидовна установява, че прилагането на екзогенния мелатонин на плъхове Wistar, подложени на високофруктозна диета, води до намаляване на телесното тегло, теглото на ретроперитонеалната мастна тъкан, намаляване на размера на коремната обиколка и протектира от метаболитни нарушения, асоциирани с висцерално затлъстяване, потиска възпалителния отговор чрез инхибиране на експресията на NF-kB в аортната стена и серумните нива на TNF- α , оксидативните процеси в аортната стена чрез засилване на експресията на Nrf-2, SOD-1, HO-1 и NOS3, протектира развитието на ендотелна дисфункция и ремоделиране на аортната стена чрез засилване на експресията на Flt-1, води до статистически значимо намаляване на теглото на ретроперитонеална мастна тъкан, размера на назо-аналното разстояние, на коремната и гръдната обиколки, индекса на Lee спрямо тези при плъховете от контролната група, редуцира нивата на серумната глюкоза спрямо тези при контролата и покачва ендотелната експресия на SOD-1 и NOS3 в абдоминалната аорта спрямо контролата (изводи №№ 7 до 13).

Изводите реално отразават получените резултати и направеното обсъждане. Може би биха могли да бъдат обединени, с което би се постигнало избягване на повторемостта на някои пасажии. Но пък така авторката заостря вниманието върху получените и обсъдени експериментални данни.

Приноси

На базата на анализа и изводите авторката е дефинирала приносите с оригинален (3 бр.), с потвърдителен (4 бр.), и приложен(2 бр.) характер.

Към приносите с оригинален характер се отнасят комплексната оценка и функционалната връзка между показатели на оксидативен стрес (Nrf-2, SOD-1, HO-1), хроничното нискостепенно възпаление (NF-kB и TNF- α), патоморфологичните промени в аортна стена и ендотелната експресия на мембранния рецептор Flt-1 при фруктозоиндуцирано затлъстяване, както и функционалната връзка между ендотелната имунохистохимична експресия на NOS3 и Flt-1 в стената на абдоминалната аорта при плъхове. Особено ценен е установеният ендотелопротективен ефект от прилагането на екзогенен мелатонин върху фруктозоиндуцираните промени в абдоминалната аорта чрез редуциране на оксидативния стрес, хронично нискостепенно възпаление, липидогенеза и засилване на ендотелната експресия на Flt-1, което регресира ремоделирането на съдовата стена и нейното възстановяване.

Приносите с с потвърдителен характер затвърждават познатите литературни данни

Безспорно най-ценни за практиката са приносите с приложен характер като ефекти на суплементацията с мелатонин при здрави контроли като средство за профилактика на

затлъстяване. А установените ефекти от суплементацията с екзогенния мелатонин върху функционалния капацитет на фруктозо-индуцираните патоморфологични, морфометрични и функционални промени в абдоминалната аорта, както и нивата на Nrgf-2, HO-1, SOD-1 експресията, показват неговия потенциал като средство за лечение на ендотелната дисфункция и асоциираното с нея ремоделиране на васкуларната стена.

Публикации по дисертационния труд

Докторантката е приложила 4 пълнотекстови публикации във връзка с дисертационния труд. Всичките са на английски език, три от статиите са отпечатани и една е in press. В 3 от публикациите тя е първи автор, а в 1 е трети автор. Кандидатката е участвала със съобщения по темата на дисертацията в 4 научни форума, като 2 са международни и 2 национални научни форуми.

Автореферат

Авторефератът е представен на 84 страници. Предвид богатата гама от изследвания и получените и обсъдени резултати, намирам, че това е в съответствие със стандартите и изискванията за този вид научен труд. Той отразява в компресиран и достатъчно информативен вид най-съществените елементи от дисертационния труд. Добро впечатление прави и фактът за изказани благодарности, което не винаги се среща в подобен род дисертации и автореферат.

Заключение

Прегледът на предложените ми материали и водещата позиция на автора в трудовете към дисертационната разработка ми дават основание да дам висока оценка на личното участие на докторанта в планирането и провеждането на експериментите, анализа на резултатите и в тяхното разпространение сред научните среди. Дисертационният труд съдържа научни, научно-приложни и приложни резултати, които представляват оригинален принос в науката и отговарят на всички изисквания на Закона за развитие на академичния състав в Република България, Правилника за прилагане на ЗРАСРБ и съответния Правилник на МУ - Варна. Представените материали и дисертационни резултати напълно съответстват на специфичните изисквания на МУ – Варна. Дисертационният труд показва, че докторантката д-р Дария Леонидовна Чивчибаши-Павлова притежава задълбочени теоретични знания, професионални умения и компетентност по научна специалност “Патофизиология” като демонстрира качества и умения за самостоятелно провеждане на научно изследване. Поради гореизложеното, убедено давам своята положителна оценка за проведеното изследване, представено от рецензирания по-горе дисертационен труд, постигнатите резултати и приноси и предлагам и почитаемото научно жури да присъди образователната и научна степен „доктор“ на д-р Дария Леонидовна Чивчибаши-Павлова в докторска програма по “Патофизиология”.

Рецензент:

Доц. д-р Радко Златков Радев, дм