

## СТАНОВИЩЕ

от доц. д-р Делян Пенев Делев, дм – ръководител на катедра по Фармакология и клинична фармакология, МУ-Пловдив, МФ

на дисертационен труд за присъждане на образователната и научна степен 'доктор'

професионално направление 7.1. Медицина

докторска програма по Фармакология (вкл. Фармакокинетика и химиотерапия)

Автор: д-р Мехмед Рейзов Абтулов

Форма на докторантурата: редовна

Катедра: Фармакология и клинична фармакология и терапия, Медицински Университет „проф. д-р Параскев Стоянов“ - Варна, Факултет по Медицина

Тема: *ФАРМАКОЛОГИЧНО ПРОУЧВАНЕ НА ЕФЕКТИТЕ НА ПЛОДОВ СОК ОТ ARONIA MELANOCARPA В ЕКСПЕРИМЕНТАЛЕН МОДЕЛ НА МЕТАБОЛИТЕН СИНДРОМ*

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

### 1. Общо представяне на процедурата и докторанта

Представеният комплект материали на хартиен и електронен носител е в съответствие с Процедура за придобиване на ОНС „доктор“ в МУ – Варна; Правилник на МУ-Варна и ЗРАСБ.

Докторантът е приложил 4 публикации.

Бележки и коментар по документите - нямам.

### 2. Актуалност на тематиката

Метаболитният синдром (МС) - наричан още синдром на инсулинова резистентност е сложен симптомо-комплекс, като най-важните рискови фактори за неговото развитие изглеждат са абдоминалното затлъстяване и инсулиновата резистентност. Съвременните диагностични критерии за МС са централно затлъстяване (задължителен компонент) – за европейската раса - обиколка на талията  $\geq 94$  cm при мъжете и  $\geq 80$  cm при жените плюс две от следните характеристики: повишени нива на триглицериди  $\geq 1.7$  mmol/l или специфично лечение, поради това липидно нарушение – нисък HDL-холестерол (HDLc)  $\leq 1.04$  mmol/l при мъжете и  $\leq 1.29$  mmol/l при жените или специфично лечение, поради това липидно нарушение; повишено артериално налягане (АН) – систолно АН  $\geq 140$  mm Hg или диастолно АН  $\geq 90$  mm Hg, или лечение на диагностицирана преди това хипертензия; хипергликемия на гладно - стойност на кръвната глюкоза на гладно  $\geq 6.1$  mmol/l или диагностициран преди това диабет тип 2; при измерване на стойност  $\geq 6.1$  mmol/l, силно се препоръчва провеждането на орално обременяване с глюкоза и изследване на имунореактивен инсулин (ОГТТ+ИРИ) за потвърждаване на синдрома.

Въпреки че МС се смята за заболяване на възрастните, с увеличаване на затлъстяването, хиперкалорийният хранителен режим и намаляване на физическата активност сред мла-

дите хора, компоненти на групата от дисметаболически нарушения, започва да се появяват дори и при децата. Честотата на МС нараства с тежестта на obesity и засяга 50% от младите хора с тежко затлъстяване.

Една от най-разпространената хипотеза за описание на МС е тази за инсулиновата резистентност като централен ключов фактор, свързващ абдоминалното затлъстяване с останалите компоненти на синдрома. Според тази глюкоцентрична хипотеза, отговорното първично нарушение е затлъстяването (генетично детерминирано или хранително предизвикано), а ИР и следващата я хронична хиперинсулинемия са компенсаторни механизми за възстановяване на енергийния баланс и поддържане на еугликемичното състояние в организма. Голяма роля в развитието на ИР имат повишените СМК, които се произвеждат чрез липолиза на складираните триглицериди в адипозната висцерална и мускулна тъкан. Произвежданите от интрамускулните триглицеролови молекули СМК водят до намален инсулин - медиран клирънс на циркулиращата глюкоза и нарушено оксидативно и неоксидативно оползотворяване на глюкозата от миоцитите. В резултат на това се появява относителна постпрандиална хипергликемия и компенсаторна постпрандиална хиперинсулинемия.

Съществува тясна връзка между метаболитния синдром и фертилитета както при жените, така и при мъжете. Точните патофизиологични механизми не са установени, но се предполага участието на наследствени фактори, начин на живот и др.

Най-често изявяващи се клинични симптоми, отразяващи връзката между метаболитните нарушения и хипоталамо-хипофизо-овариалната ос, са:

Нарушение в ритмичността на менструалните цикли. Хронична ановулация. Най-често момичетата стартират с нормални месечни цикли /МЦ/, но с течение на годините МЦ стават нередовни или спират за определен период от време, дължащи се на повтарящи се ановулаторни цикли.

Увеличаване на мастната тъкан предимно в областта на талията – симптомът е в тясна връзка с инсулиновата резистентност и е основа на връзката на гонадните нарушения с биохимичните нарушения, характерни за метаболитния синдром.

Изява на хирзутизъм и/или други клинични хиперандрогенни симптоми - акне, алопеция, себорея и др. – дължащи се основно на нарушената хормонална регулация на овариалната хормонална продукция, изразяваща се в андрогенен ексцес, стимулиран от ендемогенната хиперинсулинемия, промененото съотношение на ЛХ/ФСХ, високите нива на IGF 1, хроничната ановулация и други.

Поведение и терапевтични подходи:

Промяната в начина на живот е терапевтичният метод на първи избор при пациентите с повишен метаболитен риск. Конкретните мерки включват понижаване на телесното тегло с 5-10%, повишена физическа активност, промяна на хранителните навици и антиатерогенна диета. Съществено значение има и отказът от тютюнопушене.

За да се намали абдоминалното затлъстяване е необходима редукция на калорийния прием. Уместно е първоначално понижаване на теглото с 5-10% за период от около 12 месеца. Това може да се постигне с умерено намаляване на дневния калориен прием с 500 до 1000 kcal, което предполага отслабване с 500 до 1100 g на седмица. Отслабването в такава степен е ефективна стратегия за понижаване на риска от развитие на ЗДЗ, както и за редукция на множествените сърдечно-съдови рискови фактори. Не по-малко важно е задържането на постигнатото по-ниско тегло.

Ролята на физическата активност е изключително голяма, тъй като тя допринася за редукция на теглото и може да намали общия сърдечно-съдов риск. Препоръчва се 30-60-минутна умерена физическа активност пет пъти седмично /например бързо ходене/, като продължителните упражнения са свързани с по-голяма полза. Уместно е да се повиши и ежедневната рутинна физическа активност. Болните с висок риск от ССЗ трябва да започнат извършването на физически упражнения под медицински контрол, след функционална оценка на сърдечно-съдовата система.

Качествените промени в хранителния режим са необходими за пациентите с метаболитен синдром:

Диетата трябва да бъде бедна на наситени мазнини, холестерол, сол и прости захари, а богата на плодове, зеленчуци и риба.

Фибрите, пълнозърнестите храни и ненаситените мастни киселини трябва да бъдат в по-високо процентно съотношение в менюто.

Съществуват противоречиви мнения относно оптималното съотношение между въглехидратите и мазнините, но ограничаването на храните с висок гликемичен индекс в диетата може да понижи метаболитния риск.

Медикаментозно лечение се налага като следващ етап при някои пациенти, при които промяната в начина на живот е невъзможна или неефективна.

Поради неизяснената патофизиология на МС за момента не е възможно специфично повлияване. Това налага лекуване на отделните компоненти на синдрома.

Инсулиновата резистентност е водещ патофизиологичен фактор за МС, поради което е голям интересът към медикаментите, които могат да подобрят инсулиновата чувствителност.

Програмата за превенция на диабета показва, че лечението с метформин при болни с предиабет предпазва от или забавя развитието на захарен диабет тип 2. Метформинът намалява ексцесивната чернодробна глюкозна продукция и увеличава синтеза на гликоген, стимулира поемането на глюкоза в мускулните клетки, чрез инсулин-зависим механизъм и потиска липолизата (и съответно СМК), като не предизвиква хипогликемия. Той подобрява липидния профил, води до загуба на тегло, увеличава фибринолитична активност, намалява тромбоцитната агрегация и има благоприятен ефект върху хипертонията.

Артериалната хипертония при пациентите с метаболитен риск трябва да се лекува, според съвременните препоръки и консенсуси. При пациентите с МС се препоръчват прицелни стойности на артериалното налягане под 140/90 mmHg. Умереното повишение на артериалното налягане може да бъде повлияно с промяна в стила на живот (редукция на телесното тегло, физическа активност, ограничаване на солта, алкохола и мазнините, повишен прием на плодове и зеленчуци). При липса на достатъчен ефект е уместно прилагането на медикаменти. Най-подходяща е употребата на АСЕ - инхибитори, но в практиката често се налага комбиниране на антихипертензивните средства.

Модификацията на стила на живот е най-важната и ефективна мярка за намаление на развитието на МС и прогресията на НГТ до изразен диабет.

*Aronia melanocarpa* е растение, чиито плодове са известни със стимулиращ оздравителните процеси ефект при хора, и при животни. България е страна с прекрасни климатични условия и с много местности с подходяща почва и напояване за отглеждането на *Aronia melanocarpa*. Родината на храстите от семейство Арония е Северна Америка. От дълбока древност плодовете на това растение са известни с лечебни свойства. Употребявани са при различни заболявания и винаги са имали стимулиращ оздравителните процеси ефект. През 20-тото столетие аронията става популярна в бившия Съветски съюз и в страните от Източна Европа. Отглеждана е в домашните градини като плод, от който се приготвят сокове, мармалади, плодово вино, използвани за повлияване на хипертония и атеросклероза. В народната медицина плодовете от арония са включвани в лечението на ахлорхидрия, авитаминози, в периода на реконвалесценция при тежки заболявания, и не на последно място – при хемороиди. До 1976 г. в Съветския съюз са засадени 17 800 хектара култивирана *Aronia melanocarpa*. През 1976 г. отглеждането на *Aronia melanocarpa* се въвежда в Япония със съдействието на специалисти от бившия Съветски съюз. През 1986 г. в Швеция заработва голям проект “Арония“, с цел да се получи високоефективен източник на пигменти. Идеята се разпространява в Полша, Чехия, Словакия и Украйна.

В течение на много години плодовете на аронията са приемани като хранителна добавка с конкретни лечебни свойства. Не са известни токсични ефекти при прием на нито един от продуктите, произведени от или съдържащи арония. Сега се знае, че съдържанието на антоцианини е свързано с подобряващите здравето свойства на това растение. Днес плодовете на аронията се използват за превенция на най-масовите социалнозначими болести на базата на мощния си антимулагенен ефект, липидомодифициращо действие и намаляване общия риск от сърдечносъдови заболявания. Трябва да се има предвид известна разлика в резултатите от действието на антоцианините *in vitro* и *in vivo*, отбелязана в редица проучвания. Антоцианините, приети през устата, попаднали в стомашно-чревната система, са чувствителни към смилателните сокове на панкреаса, които са с алкален характер. Възможна е модификация в бионаличността на антоцианините.

Антиоксидантната активност на антоцианините от арония е изследвана и при хора – свързана с феномена на оксидативния стрес, който съпровожда различни метаболитни и съдови проблеми като дислипотеинемии, захарен диабет, атеросклероза. При пациенти с кардиоваскуларен риск (хипертоници, пушачи, с висок холестерол, със захарен диабет) по известни метаболитни пътища, наречени кардиометаболитни, става промяна в мембранните рецептори на тромбоцитите, вследствие нараснала продукция на свободни радикали в организма като цяло и активиране на тъканни адхезионни фактори, както и такива на макро-

фагната система. Това повишава възможностите и на тромбоцитите за адхезия и агрегация, което е свързано с артериалното тромбообразуване.

Въпреки многото данни за благоприятното влияние на *Aronia melanocarpa* все още липсват задълбочени експериментални и клинични проучвания по проблема метаболитен синдром.

**Поради всички гореспоменати факти определям тематиката като изключително актуална.**

### **3. Познаване на проблема**

Докторантът разбира състоянието на проблема и оценява творчески литературния материал. Приложена е библиография от 407 литературни източника (404 на латиница и 3 на кирилица), които са изключително добре подбрани и актуални.

### **4. Методика на изследването**

Избраната методика на изследване позволява напълно постигането на поставената цел и получаване на адекватен отговор на задачите, решавани в дисертационния труд.

### **5. Характеристика и оценка на дисертационния труд и приносите**

Дисертационният труд съдържа общо 159 стандартни машинописни страници и следва класическа структура (Въведение – 2 стр; Литературен обзор – 41 стр; Цел и задачи – 1 стр; Материал и метод – 9 стр; Собствени резултати и обсъждане – 46 стр; Изводи – 4 стр; Приноси – 2 стр; Библиография – 35 стр.). Надлежно са приложени списък с публикациите и научните изяви на докторанта (както и доказателствен материал). Представени са 30 фигури и 27 таблици, които са добре конструирани и несъмнено допринасят за по-добро представяне на сложната материя.

В литературния обзор за разгледани:

1. Метаболитен синдром, съдържащ множество подглави: дефиниции и критерии за метаболитен синдром, епидемиологични данни, рискови фактори за развитие на метаболитен синдром, наднормено тегло, абдоминално затлъстяване, заседнал начин на живот, хранителни навици, хиперурикемия, възраст, генетична предиспозиция, медикаменти, циркаден ритъм, нарушено качество на съня, нарушения на съня и метаболитен синдром, нарушена интестинална микрофлора, етнос и раса, патогенеза на метаболитен синдром, инсулинова резистентност и метаболитен синдром, хронично възпаление и метаболитен синдром, метаболитен синдром и свързани състояния, сърдечно-съдови заболявания, захарен диабет тип 2, неалкохолна мастна чернодробна болест, поликистозна болест на яйчниците, синдром на обструктивна сънна апнея (хипопнея), невропсихиатрични заболявания, онкологични заболявания, диагноза на метаболитен синдром и лечение, фармакологични ефекти на биологично активни вещества с растителен произход при метаболитен синдром, представени са и експериментални подели на метаболитен.

2. Вторият раздел е посветен на *Aronia melanocarpa* и съдържа: ботанически данни за растението, произход, разпространение и видове, характеристики, състав на плодовете, полифенолно съдържание на плодовете на *Aronia melanocarpa*, фармакологични ефекти на биологично активни вещества от *Aronia melanocarpa*. Особено добро впечатление прави последната част на обзора, която съдържа обобщение на литературните данни и дефинира мотивацията за провеждането на подобен тип експериментално проучване.

Целта на дисертационния труд е добре формулирана и поставя 2 основни задачи пред изследователя, като втората цел е изключително добре разделена на 7 подзадачи.

В материал и метод отлично са описани: Опитните животни (спазени са всички най-високи европейски стандарти и протоколи за етично отношение), използвани вещества, сок от *Aronia melanocarpa* (ПСАМ), реагенти и китове, както и методите като: индуциране на метаболитен синдром и третиране, индуциране на остро възпаление на задна лапа, тест открито поле (Open field test, OFT), тест за социално взаимодействие (Social interaction test, SIT), тест за разпознаване на мястото на предмети (Place recognition test, PRT), тест за принудително плуване (Forced swim test, FST), биохимични методи, получаване на кръвен серум, глюкозо-толерансен тест (ГТТ), определяне на триглицериди в кръвен серум, определяне на активността на антиоксидантни ензими в серум, определяне на индекси на мезентериалната, паранефралната, перигонадната, ретроперитонеалната и общата мастна тъкан, хистологични и имунохистохимични методи, хистологични методи, имунохистохимични методи и статистически методи, които определям като модерни, достатъчни и адекватни.

Частта „собствени резултати и обсъждане“ представя по чудесен начин извършената работа и анализ на собствените данни в светлината на реномирани източници от международната литература. Логически е конструирана и поднесена с висок научен стил и онагледена с подходящи фигури и таблици.

В раздел „изводи“ много стегнато и разбираемо са формулирани 2 основни заключения, които са и естествен завършек на проведеното изследване. Представени са структурирано, в няколко подточки, което улеснява възприемането на огромната по обем свършена работа от докторанта.

Авторът представя и 7 научни и новаторски приноса, а именно:

1. За първи път са получени данни за ефекти на плодов сок от *Aronia melanocarpa* върху поведението при плъхове с експериментален модел на диетично-индуциран метаболитен синдром, като са установени:
  - 1.1. Анксиолитично-подобен ефект;
  - 1.2. Подобрене на пространствената памет.
2. За първи път са получени данни за метаболитни ефекти на плодов сок от *Aronia melanocarpa* при плъхове с експериментален модел на диетично-индуциран метаболитен синдром, като са установени:
  - 2.1. Глюкозопонижаващ ефект;
  - 2.2. Антихипертриглицеридемичен ефект.
3. За първи път са получени данни за потискане на оксидативния стрес от плодов сок от *Aronia melanocarpa* при плъхове с експериментален модел на диетично-индуциран метаболитен синдром.
4. За първи път са получени данни за намаляване на висцералното затлъстяване от плодов сок от *Aronia melanocarpa* при плъхове с експериментален модел на диетично-индуциран метаболитен синдром.
5. За първи път са получени данни за протективни ефекти на плодов сок от *Aronia melanocarpa* спрямо хистопатологичните промени в мастна тъкан, миокард, коронарни съдове и

черен дроб при плъхове с експериментален модел на диетично-индуциран метаболитен синдром.

6. За първи път са получени данни за ефекти на плодов сок от *Aronia melanocarpa* върху програмираната клетъчна смърт в мастна тъкан и черен дроб при плъхове с експериментален модел на диетично-индуциран метаболитен синдром, като е установено, че:

6.1. Сокът потиска програмираната клетъчна смърт в мастната тъкан в дози 2.5 и 5.0 мл/кг. За първи път е установено, че плодов сок от *Aronia melanocarpa* във висока доза (10 мл/кг) може да индуцира апоптоза на адипоцитите в мастната тъкан. Това изисква по-задълбочени изследвания относно ефекта на сока върху адипоцитната апоптоза в различни дози и с различна продължителност на третиране с оглед идентифициране на възможните последици от такъв ефект.

6.2. Потиска програмираната клетъчна смърт в черния дроб при всички дози.

7. За първи път е установен противовъзпалителен ефект на плодов сок от *Aronia melanocarpa* след карагенан-индуцирано остро възпаление на задна лапа при плъхове с експериментален модел на метаболитен синдром.

Горещо пожелавам те да бъдат внедрени в практиката с перспективи за бъдещо развитие.

## **6. Преценка на публикациите и личния принос на докторанта**

Докторантът представя 4 публикации, свързани с дисертационния труд – 3 бр. в международни реферирано списание *Scripta Scientifica Medica* и 1 бр. в международно реферирано списание с импакт фактор (под печат). Всички статии са на английски език. На всички научни трудове д-р Мехмед Абтулов е първи автор, което доказва личното му участие в проведеното дисертационно изследване, както и че формулираните приноси и получени резултати са негова лична заслуга.

Критични забележки и препоръки (към проведеното изследване и представените материали) – нямам.

## **7. Автореферат**

Представеният ми автореферат (78 стр.) е направен според изискванията и отразява основните резултати, постигнати в дисертацията.

## **ЗАКЛЮЧЕНИЕ**

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 (ЗРАСРБ), Правилника за прилагане на ЗРАСРБ и Правилника на МУ - Варна. Представените материали и дисертационни резултати **напълно** съответстват на специфичните изисквания, приети във връзка с Правилника на МУ – Варна за приложение на ЗРАСРБ.

Дисертационният труд показва, че докторантът д-р Мехмед Рейзов Абтулов **притежава** задълбочени теоретични знания и професионални умения по научна специалност Фармакология (вкл. Фармакокинетика и химиотерапия), като **демонстрира** качества и умения за

Поради гореизложеното, убедено давам своята **положителна оценка** за проведеното изследване, представено от рецензираните по-горе дисертационен труд, автореферат, постигнати резултати и приноси, и **предлагам на почитаемото научно жури да присъди образователната и научна степен 'доктор'** на д-р Мехмед Рейзов Абтулов в докторска програма по Фармакология (вкл. Фармакокинетика и химиотерапия).

20.09. 2022 г.

Изготвил становището:  .....

(Доц. д-р Делян Пенев Делев, дм)