

## СТАНОВИЩЕ

от доц. д-р Илия Димитров Костадинов, дм

Катедра по фармакология и клинична фармакология, Медицински факултет, МУ-  
Пловдив

**Относно:** дисертационен труд на д-р Милена Годорова Салбашян за присъждане на образователната и научна степен 'доктор'

**Професионално направление:** 7.1 “Медицина”

**Област на висше образование:** 7. “Здравеопазване и спорт”

**Докторска програма:** „Фармакология (вкл. фармакокинетика и химиотерапия)“

**Тема:** „Фармакологично проучване на поведенчески ефекти на биологично активни вещества от растителен произход в модели на депресия при опитни животни“

**Форма на докторантурата:** самостоятелна подготовка

**Катедра:** „Фармакология и клинична фармакология и терапия“, Медицински университет „Проф. д-р Параскев Стоянов“ – Варна

**Научен ръководител:** проф. д-р Стефка Вълчева-Кузманова, дмн; Катедра „Фармакология и клинична фармакология и терапия“, Медицински Университет „Проф. д-р Параскев Стоянов“ – Варна

**Научен консултант:** проф. д-р Роман Емилов Ташев, дмн

Въз основа на Решение от заседание на Факултетния съвет при Факултет „Медицина“ към Медицински университет „Проф. д-р Параскев Стоянов“ – Варна по Протокол № 75/02.11.2022 г. и със Заповед № Р-109-441/11.11.2022 г. на Ректора на Медицински университет „Проф. д-р Параскев Стоянов“ – Варна съм избран за член на научно жури по процедура за придобиване на образователна и научна степен „Доктор“ на д-р Милена Годорова Салбашян. На основание решение от първо неприсъствено заседание на Научното жури от 15.11.2022 г. съм определен да изготвя становище по горепосочената процедура.

Д-р Милена Годорова Салбашян е представила всички необходими документи съгласно изискванията на Закона за развитие на академичния състав на Република България, Правилника за неговото приложение и Правилника за развитие на академичния състав на МУ-Варна. Нямам забележки относно документите.

### **Кратки биографични и професионални данни**

Милена Годорова Салбашян е родена на 04.02.1966 г. През 1999 г. завършва висше образование в МУ-Варна и придобива образователно-квалификационна степен „Магистър“ по специалност „Медицина“ с професионална квалификация „Лекар“. След завършването си работи (2000 – 2002) в отдел „Епидемиология“ на ХЕИ-Добрич. От 2002 до 2005 г. работи в Индивидуална практика за първична медицинска помощ в град Добрич. В периода 2005 – 2013 година д-р Салбашян работи като медицински асистент, флеботомист, последователно в Адалт Джериатрик Институт, Флорида, САЩ (2005-2007 г.), EZ Клиникал Лаборатори, NJ, САЩ (2007-2009 г.) и Монмонт Медикал център Сеинт Барнабас Хелт Систем, NJ, САЩ (2009-2013 г.). Владее английски и руски език. Притежава умения за работа с Microsoft office, CorelDraw, GraphPad, InSta. Член е на Българското научно дружество по фармакология, Българското научно дружество по клинична фармакология и терапия и Българския лекарски съюз. От септември 2015 година до настоящия момент е асистент към Катедра „Фармакология и клинична фармакология и терапия“ при МУ-Варна. Със заповед № Р-109-127/01.04.2019 на Ректора на МУ – Варна е зачислена като докторант в самостоятелна форма на обучение по докторска програма по специалността „Фармакология (вкл. фармакокинетика и химиотерапия). Представен е протокол за успешно положен докторски минимум. Въз основа на заповед Р-109-441/11.11.2022 г. на Ректора на МУ-Варна д-р Милена Годорова Салбашян е отчислена с право на защита.

### **Актуалност на тематиката**

Представеният дисертационен труд е относно изследване поведенческите ефекти на плодов сок от *Aronia melanocarpa* и съдържащите се в него фенолни киселини (хлорогенова, ферулова и галова) в два модела на депресия при опитни животни – двустранна овариектомия и двустранна олфакторна булбектомия. При първия модел са изследвани ефектите на плодовия сок от черноплодна арония и хлорогенова киселина върху двигателната активност, тревожността, депресивното поведение и болковата чувствителност. При булбектомираните плъхове са проучени ефектите на трите фенолни киселини върху обучението, паметта и тревожността. При поведенческите тестове са регистрирани широк спектър от фармакологични ефекти – седативен, анксиолитичен, антидепресивен, аналгетичен и подобряващ паметта. Актуалността на тематиката се определя от широкото разпространение и голямата медико-социална значимост на заболяванията при които изследваните вещества могат да имат благоприятен терапевтичен ефект.

Тревожните разстройства (паническо разстройство, генерализирано тревожно разстройство, посттравматично стресово разстройство и др.) са сред най-разпространените ментални разстройства (по данни на обширни популационно-базирани проучвания около 33,7 % от хората са страдали от такова състояние поне веднъж в живота си), като честотата им е най-висока при хората в трудоспособна възраст. Депресията е друг значителен здравен проблем. В глобален мащаб 5 % от хората страдат от депресия, като може да засегне всички възрасти. Депресията увеличава риска от други хронични социално-значими заболявания. Фармакотерапията на тревожните и депресивни разстройства е свързана с проява на редица нежелани лекарствени реакции (включително лекарствена зависимост напр. при бензодиазепиновите анксиолитици) и лекарствени взаимодействия. Наред с това при част от пациентите липсва задоволителен терапевтичен ефект от конвенционалната лекарствена терапия. Всичко това обуславя необходимостта от търсенето на нови стратегии за лечение. Изследването на лечебни растения и съдържащите се в тях биологично активни вещества е предпоставка за разработване на лекарствени продукти с комплексен механизъм на действие и намален

риск от нежелани лекарствени реакции. Проучванията относно анксиолитичния и антидепресивен ефект на плодовия сок от черноплодна арония и съдържащите се в него фенолни киселини при експериментални модели на депресия ще разкрият бъдещи възможности за приложението им в комплексната терапия на депресиите и тревожните разстройства.

Деменциите (болест на Алцхаймер, фронто-темпорална деменция, болест с дифузни телца на Леви, съдова деменция и др.) са значим здравен проблем. Честотата на деменциите прогресивно нараства с увеличаване продължителността на живот на населението. В световен мащаб около 35,6 милиона от хората страдат от деменция, като се очаква броят им да нарасне до над 115 милиона до 2050 година. Деменциите водят до влошаване качеството на живот и трайно инвалидизиране на пациентите. Наред с понижените когнитивни функции болните от деменция често имат депресивна симптоматика и тревожност. Хлорогеновата, феруловата и галовата киселина наред с подобряващия паметта ефект имат и анксиолитично действие. Това би било от полза за повлияване на съпътстващата деменцията невропсихиатрична симптоматика.

Не по-малко актуален проблем е лечението на болката. Според някои проучвания хроничната болка засяга около 30 % от хората в световен мащаб. Фактори като тревожност, безсъние, депресивна симптоматиката могат да бъдат резултат от хронична болка, но и причина за нейната проява. Независимо от напредъка във фармакотерапията на болката лечението ѝ все още е ненапълно решен проблем. Съществуващите аналгетици и адюванти често не водят до пълен контрол на болката, а от друга страна употребата им е свързана със сериозен риск от нежелани реакции. Предимство на лечебните растения и съдържащите се в тях биологично активни вещества е, че те проявяват комплексни фармакологични ефекти, които биха повлияли и съпътстващите болката депресивна и тревожна симптоматика.

Настоящото проучване има важно научно и приложно значение. То ще допринесе за по-пълно фармакологично характеризиране на плодовия сок от *Aronia melanocarpa*, хлорогеновата, феруловата и галовата киселина. Това ще постави основата за по-нататъшни изследвания относно приложението на тези вещества, като допълнителна терапевтична стратегия при лечението на депресията, тревожните разстройства, деменциите и болката.

### **Познаване на проблема**

Д-р Милена Салбашян демонстрира отлични познания в областта на разработвания проблем. Литературният обзор на дисертационния труд е написан на 54 страници и се основава на над 300 литературни източника. Той е онагледен с 1 таблица и 16 фигури, които значително улесняват възприемането на представената информация. Литературният обзор показва добрата информираност на докторантката по темата на дисертационния труд, умението ѝ да се фокусира върху нерешените проблеми, да систематизира и анализира данните от голям брой литературни източници.

Обзорът е написан компетентно и изчерпателно. Научната информация е представена в 3 раздела, които логично следват един след друг. В първия раздел от обзора са разгледани ботаническата характеристика на черноплодната арония, химическия състав на плодовете ѝ и съдържанието на полифеноли в тях. Представена е и подробна информация относно химичната природа на съединенията за които се предполага, че са основните носители на биологичната активност на плодовия сок от *Aronia melanocarpa* - полифенолите. Тези данни подпомагат докторантката при избора на фенолни киселини, чиито биологични ефекти са анализирани в настоящия дисертационен труд. Във втория раздел на литературния обзор са дискутирани данните от литературата относно фармакокинетиката на полифенолните съединения.

Информацията относно пероралната резорбция на тези биологично активни съединения и способността им да преминават кръвно-мозъчната бариера е от съществено значение с оглед целите на дисертационния труд. По този начин докторантката умело обосновава пероралния път на въвеждане на изследвания плодов сок и фенолни киселини при провеждане на експериментите. Преминаването на полифенолите през кръвно-мозъчната бариера и натрупването им в определени мозъчни структури е необходима предпоставка за реализиране на съответните ефекти в централната нервна система, които са обект на проучване в дисертацията. Последният раздел от литературния обзор е относно ефектите на полифенолите върху централната нервна система. Дискутирани са данните относно влиянието на тези съединения върху тревожността, паметта, невроналното сигнализиране и синаптичните функции, невровъзпалението и невродегенерацията, мозъчния кръвоток, неврогенезата, активността на ацетилхолинестеразата, глутамат-индуцираната ексцитотоксичност, депресивната симптоматика и болката. Представена е детайлна информация относно механизмите по които полифенолите реализират тези ефекти. Познаването на тези данни е от значение, както за дизайна на експерименталното проучване, така и при по-нататъшното обсъждане на получените от докторантката резултати.

Представения литературен обзор показва, че д-р Салбашян е отлично запозната с литературните данни по разработвания проблем, умее да ги анализира и използва при формулиране на задачите и интерпретация на получените резултати.

В края на литературния обзор д-р Салбашян обобщава представените литературни данни относно биологичните ефекти на плодовия сок от *Aronia melanocarpa* и съдържащите се в него полифеноли. Въз основа на това тя обосновава актуалността на дисертационния труд и експерименталните модели върху които фармакологичните ефекти на плодовия сок от черноплодна арония и/или съдържащите се в него фенолни киселини (хлорогенова, ферулова и галова) не са проучени. Настоящият дисертационен труд е естествено продължение и свидетелство за приемствеността в работата на изследователския екип на Катедрата по фармакология и клинична фармакология и терапия на МУ-Варна. В този аспект неоспорима е ролята на научния ръководител на докторантката – проф. д-р С. Вълчева-Кузманова.

### **Методика на изследването**

Дизайнът на проучването е подробно описан. Избраните методи са съвременни, надеждни и позволяват постигането на поставената цел. Описани са детайлно и прецизно, което гарантира възпроизводимост на получените резултати. В дисертационния труд е използван богат набор от *in vivo* методики. Това е пряко доказателство за добрата практическа подготовка на докторантката.

Експериментите са проведени върху мъжки и женски бели плъхове порода Wistar. Използвани са два съвременни експериментални модела на депресия – двустранна овариектомия и двустранна олфакторна булбектомия. Докторантката е усвоила голям брой поведенчески методи за регистриране на изследваните фармакологични ефекти – тест открито поле, метод за обучение с активно двупосочно избягване, метод за обучение с пасивно избягване, тест за социално взаимодействие, повдигнат кръстосан лабиринт, принудително плуване и тест гореща плоча. Това позволява изследване и регистриране на редица ефекти на изследваните вещества върху ЦНС – двигателна активност, анксиолитичен, антидепресивен, аналгетичен ефект и влияние върху работната памет.

Извършена е компетентна и коректна статистическа обработка на получените резултати с помощта на статистически пакет GraphPad Prism (Version 5.00, GraphPad Software, Inc.).

## Характеристика и оценка на дисертационния труд и приносите

Дисертационният труд е структуриран по изискванията за придобиване на ОНС „Доктор” с добър баланс между отделните раздели. Написан е на 177 страници, от които въведение (2 страници), литературен обзор (54 страници), цел и задачи (2 страници), материали и методи (13 страници), собствени резултати и обсъждане (50 страници), изводи (4 страници), научни приноси (1 страница). Библиографската справка е написана на 39 страници и включва 631 автора, от които 3 на кирилица и 628 на латиница. Дисертационният труд е онагледен с 12 таблици и 41 фигури.

Целта е ясно и точно формулирана. За изпълнението ѝ са поставени 4 задачи.

Проведените експерименти са много прецизно и коректно планирани и осъществени. Резултатите от тях са компетентно обработени статистически, детайлно описани и онагледени с 18 фигури и 10 таблици. Представянето на резултатите следва в логична последователност на поставените задачи и е обособено в два раздела. Първият раздел е относно ефектите на плодов сок от *Aronia melanocarpa* и хлорогенова киселина върху върху поведението на овариектомирани плъхове. Фармакологичните ефекти са проучени след 30-дневно и 75-дневно третиране на експерименталните животни. Този раздел включва 4 подраздела, в които се описват резултатите от изследването на четирите фармакологични ефекта заложи в първите две задачи – ефект върху двигателна активност, тревожността, депресивното поведение и болковата чувствителност. Вторият раздел на резултатите е относно поведенческите ефекти след 14-дневно третиране с хлорогенова, ферулова и галова киселина на плъхове с двустранна булбектомия. Той включва 2 подраздела, в които се описват резултатите от изследването на двата фармакологични ефекта заложи в трета и четвърта задача – ефект върху тревожността и паметовите функции. Всеки от подразделите е последван от подробно обсъждане на получените резултати.

Д-р Салбашян умело анализира и интерпретира получените резултати от поведенческите тестове, както и съпоставя собствените резултати с тези на други автори. Докторантката компетентно и интелигентно обсъжда евентуалните механизми на регистрираните фармакологични ефекти. Това е свидетелство за добрата ѝ осведоменост относно литературните данни и информативната стойност на поведенческите тестове.

Докторантката е формулирала 2 извода, които съответстват на получените експериментални резултати и напълно отговарят на поставените задачи.

Посочени са 4 приноса на дисертационния труд. Те са оригинални, имат не само научно, но и научно-приложно значение. За първи път са изследвани ефектите на плодов сок от *Aronia melanocarpa* при овариектомирани плъхове, като е установено, че той потиска двигателната активност, проявява анксиолитичен и антидепресивно-подобен ефект, увеличава болковия праг при термична болка. Също така за пръв път са изследвани ефектите на хлорогенова киселина при овариектомирани плъхове, като е установено, че тя предизвиква известно понижаване на общата двигателната активност; предотвратява развитието на тревожност; няма ефект върху депресивната симптоматика и увеличава праговата чувствителност за термична болка. При булбектомирани плъхове за пръв път са изследвани ефектите на хлорогенова, ферулова и галова киселина, като е демонстрирано, че те предотвратяват индуцираната от булбектомия хиперактивност; проявяват анксиолитично-подобен ефект; подобряват паметовите и обучителните процеси. Направените проучвания с плодов сок от *Aronia melanocarpa* и трите фенолни киселини допринасят за по пълното им фармакологично характеризиране, както и за разкриване на бъдещи възможности при лечение на тревожно-депресивните, невродегенеративните и други заболявания на нервната система. Приемам приносите на дисертационния труд.

## Автореферат

Авторефератът на дисертационния труд е оформен според изискванията и съдържа 83 страници. Онагледен е с 18 фигури, 11 таблици и отразява в синтезиран вид основното съдържание на дисертационния труд – използваните методи, получените резултати, обсъждане, изводи и формулираните приноси.

## Публикации и участия в научни форуми по темата на дисертационния труд

Д-р Милена Салбашян е приложила списък с 4 пълнотекстови публикации и 9 участия в научни форуми по темата на дисертационния труд. Всички пълнотекстови публикации са на английски език, като в две от тях докторантката е първи автор. Три от пълнотекстовите статии са в списания реферирани в международни бази данни - две от публикациите са в български списания реферирани в Scopus (Folia Medica, Bulgarian Chemical Communications), една в чуждестранно списание с IF (Farmacia, IF=1,48). От посочените научни форуми 6 са в чужбина и 3 в България. Докторантката има и 1 участие в научен проект по темата на дисертацията.

Посочените данни за публикационната активност на докторантката са свидетелство за уменията ѝ да анализира, обобщава и представя данните от експерименталните изследвания в публикации и научни форуми. Броят и видът на публикациите отговарят на изискванията за придобиване на ОНС „Доктор“ според Закона за развитие на академичния състав в Република България, Правилника за неговото приложение и Правилника на МУ- Варна.

Нямам критични забележки към проведеното изследване и представените материали.

## Заклучение

Дисертационният труд на д-р Милена Тодорова Салбашян, озаглавен „Фармакологично проучване на поведенчески ефекти на биологично активни вещества от растителен произход в модели на депресия при опитни животни“, е посветен на актуална и значима тематика. Докторантката има отлична литературна информираност върху изследвания проблем, овладяла е богат набор от съвременни *in vivo* методи за изследване, които използва при изпълнение на формулираните задачи. Получените резултати са последица от прецизно планирано и проведено научно изследване, документирани са точно и детайлно. Приносите на дисертационния труд са оригинални, имат научна и научно-приложна стойност.

Д-р Милена Тодорова Салбашян е изграден специалист по фармакология, притежава задълбочени теоретични познания и практически умения, демонстрира качества за самостоятелно планиране и провеждане на научно изследване.

Представеният дисертационен труд напълно отговаря на изискванията на Закона за развитие на академичния състав в Република България (ЗРАСРБ), Правилника за прилагане на ЗРАСРБ и Правилника на МУ „Проф. д-р П. Стоянов“ – Варна.

В заключение, 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 Милена Тодорова Салбашян в докторска програма по специалността „Фармакология (вкл. фармакокинетика и химиотерапия)“.

04.01.2023 г.

Изготвил становището: .....

(доц. д-р Илия Костадинов, дм)