

РЕЦЕНЗИЯ

на дисертационен труд и автореферат на тема
„ЕФЕКТИ НА ВИТАМИН К ПРИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЕН МОДЕЛ НА МЕТАБОЛИТЕН
СИНДРОМ”,

представен за публична защита пред Научно жури за присъждане на научна и
образователна степен „ДОКТОР” в област на висше образование 7. Здравеопазване и
спорт, по професионално направление 7.1. Медицина,
научна специалност „Фармакология (вкл. фармакокинетика и химиотерапия)“

Автор: Д-р Силвия Ганчева Маринова,
асистент в Катедра по фармакология и клинична
фармакология и терапия при МУ-Варна,
докторант на самостоятелна подготовка

Научен ръководител: Доц. д-р Мария Делчева Желязкова-Савова, д.м.

Рецензент: Чл. кор. проф. д-р Мила Власковска, дм, дмн
Медицински факултет, Медицински университет София
Избрана за член на Научното жури със заповед Р-109-200/02.05.2018 и определена да
изготви рецензия на представения дисертационен труд със заповед Р-109-
331/04.06.2018 г.

Служебен адрес: чл. кор. проф. д-р Мила Власковска, дм, дмн
Катедра по фармакология и токсикология
Медицински факултет, Медицински университет София

ул. Здраве № 2, 1431 София
e-mail: mvlaskovska@medfac.mu-sofia.bg

Не съм открила пропуски в приложената от д-р Силвия Ганчева Маринова
документация. Декларирам, че нямам общи научни трудове с докторанта.

ДАННИ ОТ ПРОФЕСИОНАЛНАТА БИОГРАФИЯ

Университетско образование: 2001-2007 г – магистър, хуманна медицина, Медицински
университет Варна

Професионален стаж: 2008 г – понастоящем

Асистент в Катедрата по фармакология и клинична фармакология, МУ-Варна. Общ
професионален стаж като асистент – 10 години

Следдипломно обучение: 2015 г – ДОКТОРАНТ НА САМОСТОЯТЕЛНА ПОДГОТОВКА
Професионално направление Медицина; Научна специалност Фармакология (вкл.
фармакокинетика и химиотерапия)

Силвия Ганчева завършва Природоматематическа гимназия в Силистра, профил
биология с интензивно изучаване на английски език през 2001 г. През 2007 г се
дипломира с отличие от Медицински Университет Варна като лекар с ОКС *магистър*
по медицина. От 2008 г д-р Силвия Ганчева е асистент в Катедрата по фармакология и
клинична фармакология, МУ-Варна. За този сравнително кратък 10-годишен
професионален път, и въпреки двукратното ѝ отсъствие по майчинство, д-р Силвия

Ганчева се утвърждава като отговорен млад изследовател и ерудиран преподавател с много добра практическа и теоретична подготовка.

ПРЕЦЕНКА НА ПРЕДСТАВЕНИЯ ДИСЕРТАЦИОНЕН ТРУД

1) Актуалност на проблема

В днешно време затлъстяването, метаболитният синдром, диабет тип 2 придобиват епидемични размери в модерния свят. Тези хронични заболявания представляват сериозен здравен проблем в качеството им на рискови фактори за сърдечно-съдови и други, включително нервно-психични усложнения. Независимо, че съвременната медицина разполага с възможности за лечение на метаболитната патология, остават все още нерешени проблеми, главно в областта на превенцията.

За много от болестите на напредналата възраст, най-вече кардиометаболитните, нездравословният начин на живот, включително нерационално хранене, са от съществено патогенетично значение. В тази връзка интерес представляват микронутриентите, чиито хранителен внос се счита като цяло за недостатъчен и допринасящ за влошаващия се здравен статус на населението. Сред набиращите популярност в последните години фактори в тази област, е витамин К, с многобройните му новооткрити потенциални здравни ползи, в т.ч. и по отношение на метаболитните заболявания. Заради това считам, че представеният дисертационен труд, посветен на ролята на витамин К при метаболитен синдром, е актуален от практическа гледна точка, и интересен – от фундаментална, тъй като се търси отговор и на едно формално противоречие между витамин К и витамин К-зависимия протеин остеокалцин.

2) Изводи, научни приноси и препоръки

Изводите, до които стига докторантът в настоящия труд, са логична консеквенция от добре дизайнирани и проведени експерименти и компетентен анализ на резултатите.

Извършена е голяма по обем и продължителност работа. Резултатите по своята същност са оригинални, тъй като ролята на витамин К при метаболитни заболявания в експериментални условия не е проучвана в България, а в световен мащаб данните са оскъдни. Не е изследвана при плъхове и активността на остеокалцина като хормон от костен произход, регулиращ инсулиновата секреция и чувствителността на тъканите към инсулин, и то диференцирано по отношение на карбоксилираната и некарбоксилираната форма на този витамин К-зависим протеин. Фармакологичният подход за постигане на противоположни промени в концентрацията на некарбоксилирания остеокалцин също представлява интерес. На този фон, получените изводи – много добре формулирани и следващи логиката на извършената работа, напълно отразяват получените резултати. Това, което досега е известно единствено от данните за мишки – генно-модифицирани или нормални животни, се репликира в настоящия труд с помощта на по-скромни методични възможности, и при плъхове. Като алтернатива на генетичните подходи, докторантът прилага находчиво подбрани лекарства, чието хронично приложение води до значителни промени в нивата на некарбоксилирания остеокалцин, което позволява да се търсят метаболитни и поведенчески корелати на тези състояния. Оформят се изводите, че има основание да се приеме регулаторна функция на некарбоксилирания остеокалцин по отношение на въглехидратния метаболизъм, както и на поведенчески и когнитивни функции – чрез повлияване на кръвно-захарното ниво или по други механизми. В същото време, наблюдавани са благоприятни ефекти и от приложението на витамин К₂,

основната екстрахепатална форма на витамин К, по отношение на метаболитни и нервно-психични показатели, без тези двете да влизат в противоречие.

Приносите, според мен, са убедително представени и имат реален фундаментален импакт, както и практическа стойност. От една страна, за първи път е установена връзка между нивото на некарбоксилирания остеокалцин при плъхове и показатели на енергийния метаболизъм и поведенчески функции, демонстрирана при (i) създаден и верифициран от докторанта модел на метаболитен синдром, където некарбоксилираният остеокалцин е понижен; (ii) повишени нива на некарбоксилиран остеокалцин, индуцирани фармакологично с помощта на вафрарин, където се наблюдават метаболитни и поведенчески промени с обратен знак; (iii) понижени нива на некарбоксилиран остеокалцин, индуцирани фармакологично с помощта на алендронат, където метаболитните и поведенческите промени са еднопосочни и синергични с тези при метаболитен синдром. От друга страна, характеристиките на използваните като средства за анализ лекарства са допълнени експериментално с нова информация касаеща ефекти върху метаболитни и поведенчески показатели. Не на последно място, показано е, че полезните ефекти на витамин К при метаболитен синдром и съпътстващите го тревожно-депресивни смущения, не се противопоставя на ефектите на некарбоксилирания остеокалцин.

3) Научна хипотеза, цел, задачи, литературен обзор и използвана литература

Научната хипотеза на докторанта се базира на литературни данни за остеокалцина като хормон от костен произход, регулиращ инсулиновата секреция и чувствителност, които теоретично влизат в конфликт с данните за полезно действие на витамин К по отношение на въглехидратния метаболизъм. Противоречието се дължи на факта, че за разлика от останалите витамин К-зависими протеини, които се карбоксилират, за да се активират, при остеокалцина обратно, некарбоксилираната форма се счита за метаболитно активна. Резултатите от проведените експерименти показват, че и двете тези имат в определена степен своето основание и противоречието е формално, поне що се отнася до използвания в случая вид опитни животни.

Целта на дисертацията е ясно дефинирана: да се хвърли светлина върху ролята на витамин К и зависимия от него протеин остеокалцин в регулацията на енергийния метаболизъм, поведението и когнитивните функции при интактни опитни животни и при модел на метаболитен синдром при плъхове.

За постигнето на тази цел са посочени 4 основни задачи: (i) разработване и верифициране на модел на метаболитен синдром на плъхове с определяне нивата на остеокалцин и изследване на метаболитни и поведенчески показатели; (ii) изследване ефектите на витамин К₂ върху метаболитни и поведенчески показатели при интактни плъхове и такива с метаболитен синдром; (iii) моделиране на субклиничен дефицит на витамин К чрез приложение на варфарин под защитата на витамин К₁, с определяне нивата на остеокалцин и изследване на метаболитни и поведенчески показатели при интактни плъхове и такива с метаболитен синдром; (iv) моделиране на дефицит на некарбоксилиран остеокалцин чрез приложение на алендронат, с изследване на метаболитни и поведенчески показатели при интактни плъхове и такива с метаболитен синдром.

Литературният обзор интелигентно резюмира възлови данни в двете основни направления: витамин К и остеокалцин. Витамин К се разглежда обстойно откъм природа, видове, източници, фармакокинетика, механизми на действие. Обръща се внимание на факта, че гама-глутамил-карбоксилирането на витамин К-зависимите

протеини не е единствения начин, по който К витамините осъществяват биологичните си ефекти. Посочват се механизми, чрез които субклиничният дефицит на витамин К може да се свърже с болести на стареенето, между които, наред с остеопорозата и съдовата калцификация, са и нарушенията на енергийния метаболизъм. Втората линия обсъжда модерните данни за остеокалцина като хормон, освобождаващ се при костна резорбция и стимулиращ инсулиновата секреция, както и подобряващ инсулиновата чувствителност чрез освобождаване на адипонектин. Разглежда се ролята на остеокалцина в регулацията на невропсихични функции и фертилитета при мишки. Засягат се и възможностите за фармакологично повлияване на нивото на остеокалцина. Като трета линия в литературния обзор се разглеждат опциите за индуциране на метаболитен синдром с висококалорична диета.

В своя дисертационен труд д-р Ганчева е цитирала 352 научни публикации на английски език, като 48% от тях са от последните 10 години. Според мен литературният обзор представя много добре състоянието на научната литература по разглежданите проблеми. Той показва отлично познаване на материята от страна на автора и възможността за свободно боравене със съответните източници при анализиране на получените резултати.

4) Методология

Експериментите в дисертационния труд са проведени на мъжки бели плъхове порода Wistar. Подбраните методи са напълно адекватни на поставените задачи. За целта на изследването са използвани два експериментални модела – единият, на метаболитен синдром, разработен и апробиран от автора, а другият – на субклиничен дефицит на витамин К, адаптиран към локалните условия по отношение на дози и пътища на въвеждане на прилаганите лекарства.

Проявите на метаболитния синдром са оценявани с помощта на стандартни биохимични показатели (кръвна захар, триглицериди, холестерол, LDL, HDL), както и чрез инсулинотолерантен и глюкозотолерантен тестове, даващи представа съответно за инсулиновата чувствителност и нарушения глюकोзен толеранс. Серумните нива на инсулин, лептин, карбоксилиран и некарбоксилиран остеокалцин, където са изследвани, са определяни чрез ELISA китове. Оксидативният стрес е изследван чрез определяне на реагиращи с тиобарбитурова киселина субстанции.

Поведенческите показатели включват тест „Открито поле“ за определяне двигателна активност и тревожност, тест за социално взаимодействие за оценка на тревожността, тест за принудително плуване за оценка на депресивно-подобно състояние; тестове за разпознаване на обект и място – за оценка съответно на предметна и пространствена памет.

Статистическата обработка на резултатите е прецизно извършена и надлежно отразена при представяне на резултатите, а използваните методи са подходящи за естеството на различните експерименти, за които са приложени.

5) Резултати

Събран и анализиран е голям по обем експериментален материал. Проведени са поредица от хронични експерименти, изискващи добро планиране, организация, постоянство и системна работа. Резултатите, заедно с обсъждането, са представени на 76 страници и са систематизирани в подраздели: (i) Експериментален модел на метаболитен синдром; (ii) Ефекти на витамин К при плъхове с метаболитен синдром;

(iii) Ефекти на варфарин при плъхове с метаболитен синдром; (iv) Ефекти на алендронат при плъхове с метаболитен синдром. Резултатите са убедителни и най-общо възпроизводими при повтарящите се опитни постановки, което е предизвикателство в експерименталната практика и критерий за рецизна работа. Съпроводени са с оценка на статистическата достоверност. Представени са по перфектен начин в 37 цветни фигури и 17 таблици.

б) Структура, оформление и автореферат

Рецензията на дисертационен труд обхваща 166 страници, разпределени в следните раздели: въведение, литературен обзор, цел и задачи, материали и методи, резултати и обсъждане, обобщена дискусия, изводи, приноси, публикации и участия, библиография. В структурно отношение най-голям дял закономерно е посветен на резултати и обсъждане, последван от литературния обзор и от литературните източници. Резултатите са представени в същия ред, както са разгледани съответните проблеми в литературния обзор, и както след това са формулирани и задачите. Това позволява ясно и последователно да се проследят проведените експерименти, получените резултати и тяхната интерпретация. Текстът е интелигентно написан и доказва високата професионална и обща култура на докторанта. В полиграфски аспект трудът е отлично изработен. Приемам проекта за автореферат, който репродуцира удачно и в достатъчна степен дисертационния труд.

7) Интерпретация на данните и адекватност на направените изводи и препоръки

Д-р Ганчева представя и компетентно анализира получените резултати в светлината на наличната публикувана информация. При липса на съществуващи литературни данни за директна съпоставка, резултатите са интерпретирани логично от гледна точка на възможни механизми. В тяхната съвкупност резултатите показват, че както витамин К₂, така и некарбоксилният остеокалцин, изследван в различните експериментални постановки, са в състояние да повлияят благоприятно биохимичните и поведенческите прояви на метаболитния синдром. На тези ефекти не бива да се гледа като на взаимно изключващи се феномени, тъй като те могат да се осъществяват по независими един от друг механизми. Направените изводи са прецизни и изведени директно от резултатите.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В своя дисертационен труд д-р Ганчева се задълбочава в интересен и на пръв поглед противоречив проблем, който има и теоретични, и практически аспекти. От една страна, нейната работа потвърждава, че при плъхове, както и при мишки, некарбоксилният остеокалцин може да се квалифицира като освобождаван от костите хормон с регулираща роля по отношение на енергийния метаболизъм и поведението, особено при нарушения в метаболитната обмяна. От друга страна, витамин К₂, от който се очаква намаляване на некарбоксилния остеокалцин, не влошава изследваните показатели в модела на метаболитен синдром, а напротив – подобрява някои от тях. Тези резултати показват, че витамин К може спокойно да се използва за многобройните му здравословни, вкл. метаболитни ползи. Същевременно, интересно допълнение към резултатите са данните за често използваните в клиничната практика лекарства варфарин и алендронат, за които експериментално се установяват нови индиректни, метаболитно- и психо- активни свойства, чрез повлияването на остеокалцина.

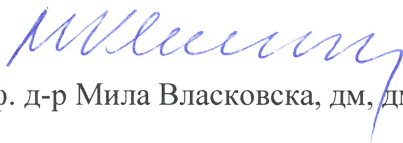
Д-р Ганчева е водещ автор на 6 отпечатани научни труда във връзка с дисертацията, вкл. в списание с импакт фактор. С резултати от изследванията тя е участвала в 15 научни форуми на национално или международно ниво.

Д-р Ганчева има много добра теоретична подготовка и познава отлично литературата в своята област. Тя е изграден изследовател, който може да планира и провежда експериментални проучвания, да анализира и интерпретира получените резултати и да формулира изводи.

Познавам лично докторантката, научния ръководител –доц. Желязкова-Савова и Ръководителя на Катедрата –проф. Кузманова и искам да изразя особена удовлетвореност от интелигентността на Ръководството да създаде атмосфера и активността и ентузиазма на колектива на Катедрата по фармакология и клинична фармакология и терапия при МУ-Варна в научно-изследователската и учебно-преподавателска дейност. Поредният резултат е представената отлична работа.

С пълна убеденост препоръчам на членовете на Научното жури да оценят положително дисертационния труд „*Ефекти на витамин К при експериментален модел на метаболитен синдром* ” и да удостоят д-р Силвия Ганчева Маринова с научната и образователна степен „Доктор“, професионално направление Медицина, специалност Фармакология (вкл. фармакокинетика и химиотерапия).

Рецензент



Чл. кор. проф. д-р Мила Власковска, дм, дмн
София,
18. 06. 2018