



Рецензия

на

Дисертационен труд: "ВЪЗМОЖНОСТИ ЗА КОРИГИРАНЕ НА НАРУШЕНИЯТА В ЕСТЕСТВЕНИТЕ ЗАЩИТНИ МЕХАНИЗМИ ПРИ ЖИВОТНИ С РАЗЛИЧНА ЧУВСТВИТЕЛНОСТ КЪМ АНТИГЕНИ НА ГРАМ-НЕГАТИВНИ БАКТЕРИИ"

за

присъждане на научната степен: "Доктор на науките", в област на висше образование "6.0 Аграрни науки и ветеринарна медицина", професионално направление "6.4 Ветеринарна медицина", научна специалност "Патология на животните"

на

Доц. д-р Мария Йорданова Андонова,

Кат. "Обща и клинична патология", Секция "Функционална патология и имунология"

изготвена от

Проф. д-р Стойчо Димитров Стоев, двмн

Кат. "Обща и клинична патология", Секция "Патологична анатомия"

ОБЩА ОЦЕНКА НА ДИСЕРТАБИЛНОСТТА И АКТУАЛНОСТТА НА ИЗБРАНАТА ТЕМА.

Тази дисертация осветлява някои специфични възможности за коригиране на нарушенията в естествените защитни механизми при животни с различна чувствителност към антигени на грам-негативни бактерии. Тази тематика е интересна и недостатъчно разработена. Ето защо приносът на дисертанта в тази област е много полезен и с висока практическа стойност. Налице са достатъчно собствени изследвания. Може със сигурност да се каже, че използвания експериментален модел с опитни животни позволява получаването на точна и коректна информация за най-ранните стадии от развитието на инфекциозния процес, а едновременно с това изяснява в детайли поведението на защитните механизми на организма и позволява да се отчетат възможните нарушения в тези механизми по време на инфекцията. Всичко това допринася значително за разработване на нови схеми и възможности за лечение и въздействие върху механизмите за управление на инфекциозния процес, както и подпомагане защитния потенциал на организма и съответно коригиране на възникналите нарушения в естествените защитни механизми. Ето защо считам, че избраната тематика на дисертацията е много актуална и дисертабилна имайки предвид, че у нас все още няма информация за подобни проучвания. Публикуваните 15 статии вrenomирани научни списания, 8 от които в списания с импакт фактор

и импакт ранг, 37 цитирания от които 18 в списания с импакт фактор, както и обстоятелството, че доцент Андонова е водещ автор в 10 от публикациите приложени в дисертацията, и има участие в 9 научни форуми по тематиката на дисертацията сами по себе си са най-убедителното доказателство че тази дисертация има висока научна стойност и научен принос.

СТРУКТУРА НА ДИСЕРТАЦИОННИЯ ТРУД.

Дисертационният труд е написан на 303 стандартни страници и съдържа 63 фигури, от които 27 патоморфологични снимки, 16 таблици и 925 литературни източника. Налице е добро структуриране и оформление на дисертационния труд, като съотношението между различните раздели: увод, литературен обзор, цел и задачи на изследването, материал и методи, резултати, обсъждане, изводи, приноси и препоръки за практиката е логически обосновано, адекватно и балансирано добре. Направени са 18 извода и са дадени 12 оригинални и 3 потвърдителни приноси. Дисертантът е представил и 6 препоръки за нуждите на практиката. Научните резултати представени в дисертацията са публикувани в 15 оригинални статии в научни списания от които 13 са на английски език и 2 на български език, като 5 от статиите са в списания с импакт фактор, а 3 в списания с SJR. Трябва да се отбележи, че в 10 статии доц. Андонова е водещ автор, в 2 е втори, а в една статия тя е самостоятелен автор. Голяма част от научните резултати са докладвани и на 9 научни форуми, 4 от които са в чужбина. Дисертантът е представил и 37 цитирания, 18 от които са в списания с импакт фактор.

ЛИТЕРАТУРЕН ОБЗОР И ОСВЕДОМЕНОСТ.

Литературният обзор е написан на 71 стандартни страници и съдържа задълбочен анализ на наличните литературни данни по разработваният проблем. Прави впечатление, че доц. Андонова използва и борави с много нова информация и съвременна терминология, а освен това е много добре запозната добре с всички налични проучвания в разработваната област. Внушителният брой цитирани литературни източници (925 на брой, 20 от които са на кирилица и 905 на латиница) показва, че дисертанта е добре запознат с проблема. Отделните литературни източници са компетентно цитирани и също така адекватно и критично анализирани, като голяма част от тях са от последните 10-15 години, което показва, че дисертантът има доста обширни и задълбочени съвременни познания, както и добра осведоменост по така разработвания проблем. Въз основа на наличните литературни данни е направено кратко обобщение от 3 страници в края на обзора, където се посочва че съществуват много на брой неизвестни относно механизмите, критични за оцеляването на Грам-негативните бактерии, което от своя страна предполага целенасочени изследвания в тази насока, които могат да спомогнат за разработването на ефективни средства за блокирането на тези механизми. Липсата

на достатъчно яснота относно различната чувствителност на животните към антигените на Грам-отрицателните бактерии обуславя от своя страна необходимостта от точна информация за възникналите промени в имунната хомеостаза на животните, което би позволило по-ефективна борба срещу тези бактерии. Затова търсенето на нови биомаркери, даващи информация за промените на клетъчно ниво би съдействало да се изяснят възможностите на компенсаторните механизми, да се активира защитния потенциал на организма за да може той да се справи с възникналия проблем. Направеното кратко обобщение на литературния обзор от своя страна позволява правилно да се формират целта, работната хипотеза и задачите в дисертацията.

ЦЕЛ, РАБОТНА ХИПОТЕЗА И ЗАДАЧИ.

Целите, изследователската хипотеза и задачите са правилно формулирани и съответстват напълно на темата и заглавието на дисертацията, което позволява правилно разработване на формулираните проблеми и достигане до правилните изводи и препоръки за практиката. Формулирани са 4 основни задачи, които са разбити на 13 подзадачи. Имайки предвид основната цел на дисертационния труд “чрез използване на експериментални модели с животни, притежаващи различна чувствителност към антигените на Грам-негативните бактерии *E. coli* и *P. aeruginosa* да се отдиференцират настъпилите нарушения в защитния им потенциал, свързан с барьерни системи и неспецифични защитни реакции (като възпаление, острофазов отговор и фагоцитоза) и на тази база да се разработят нови схеми за коригиране на установените нарушения в защитните механизми, с което да се съдейства за решаване на проблема с важно практическо значение, а именно повишаване на ефективността на антибактериалната терапия” и формулираната работна хипотеза, която цели “да се установи дали при животни с различна чувствителност към антигените на Грам-негативни бактерии, коригирането на нарушенията в едно ключово звено на естествения имунитет се отразява върху ефективността на функциониране на останалите естествени защитни механизми”, можем със сигурност да твърдим, че дисертантът успешно се е справил с това предизвикателство, базирайки се на големия брой различни изследвани животни (мишки, плъхове, прасета и кучета) и адекватния брой и вид на поставените задачи и изследваните показатели.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИ.

Този раздел е написан на 30 стандартни страници и от него се вижда, че са извършени значителен по обем експериментални изследвания в динамика върху 108 броя мишки, 135 броя плъхове, 42 броя прасета и 25 броя кучета, които позволяват адекватна статистическа обработка и обезпечават достоверността на статистическите данни.

Освен това, използваните експериментални животни и експериментални модели за изследване са правилно подбрани и напълно достатъчни, а подбраните биомаркери за бактериална кожна инфекция и за възпаление, както и различните ензимни и неензимни антиоксиданти, индикатори на оксидативния стрес, клетъчни и хуморални показатели на естествения имунитет, острофазови протеини и патохистологични изследвания са също добре подбрани и адекватни за решаването на поставените конкретни задачи от дисертанта. Всичко това затвърждава убеждението ми, че получените резултати и направените изводи въз основа на тях са добре обосновани и подкрепени с достатъчно експериментални данни.

Използвани са също много съвременни методи и модерни техники на изследване, които са добре и детайлно описани и затова позволяват да бъдат възпроизведени, което е допълнителна гаранция за достоверността на получените резултати. Големия брой съвременни релевантни показатели които са били проучени са непосредствено свързани с конкретните задачи и с поставената цел и дават надеждна информация за наблюдаваните промени в антиоксидантния статус, липидната пероксидация, нарушенията в естествените защитни механизми и др.

Резултати.

Разделът е написан на 83 стандартни страници и е онагледен с общо 63 фигури, от които 27 патоморфологични снимки и 16 таблици, където е представена и статистическа обработка на получените резултати. Това от своя страна дава възможност всички те да бъдат правилно и задълбочено интерпретирани и да бъде направено последващо обсъждане въз основа на достоверните отклонения на различните показатели, използвани за доказване на работната хипотеза и съответните задачи.

Резултатите са подходящо групирани в отделни раздели и подраздели, както и адекватно онагледени чрез съответни фигури и таблици. Това от своя страна позволява лесно проследяване, сравняване и правилно отчитане на съответните промени в съответните показатели, характеризиращи промените в антиоксидантния статус и липидната пероксидация при мишки третирани с липополизахарид, както и отдиференцирането на нарушенията в естествените защитни механизми при плъхове и/или прасета третирани с липополизахарид и оценяване на възможностите за тяхното коригиране чрез блокиране на простагландиновата синтеза с индометацин и на хистаминовите рецептори с циметидин, а също и проучването на поведението на естествените защитни механизми и оценяването на ефектите на конвенционалната, алтернативната и комплементарната терапия при експериментален модел на кожна инфекция с *P. aeruginosa* при кучета.

Направената статистическа обработка чрез еднофакторен, двуфакторен дисперсионен анализ (ANOVA) и корелационен анализ дава допълнителна тежест на получените резултати, отчитайки връзките между промените в стойностите на изследваните показатели в зависимост от въздействащия фактор, в т.ч. индометацин, циметидин и/или различния начин на третиране с липополизахарид или експериментален модел на кожна инфекция с *P. aeruginosa*. Това от своя страна позволява един по-задълбочен анализ на резултатите в последващото обсъждане.

Изследванията на голям брой биохимични и патохистологични показатели, както и различни ензимни и неензимни антиоксиданти, биомаркери за бактериална кожна инфекция и за възпаление, индикатори на оксидативния стрес, клетъчни и хуморални показатели на естествения имунитет, острофазови протеини, метаболитни показатели, чернодробни трансаминази и червена кръвна картина, затвърждават убеждението ми, че получените резултати и направените изводи и препоръки са добре обосновани и подкрепени с достатъчно релевантни изследвания. Освен това искам да добавя, че тези проучвания са първи по рода си пилотни проучвания в нашата страна и дават възможността за разработване на нови схеми за лечение и въздействие върху механизмите за управление на инфекциозния процес и да подпомогнат защитния потенциал на организма за съответно коригиране на възникналите нарушения в естествените защитни механизми.

Обсъждане.

Обсъждането на резултатите е направено на 43 стандартни страници и е много задълбочено и компетентно, на много висок стил и показва добра осведоменост в разработваната тематика, което позволява правилна интерпретация на промените в различните показатели или различните тенденции и компетентно сравнение на някои от резултатите с тези на други автори, работещи в същата област. Всичко това затвърждава убеждението ми, че получените резултати и направените изводи и препоръки за практиката са добре обосновани и с висока практическа стойност.

Изводи.

Въз основа на така направеното задълбочено обсъждане са направени 18 изводи, 12 оригинални и 3 потвърдителни приноси, както и 6 препоръки за практиката, които могат добре да послужат на ветеринарните специалисти и научните работници в усилията им за разработване на нови схеми за лечение и въздействие върху механизмите за управление на инфекциозния процес, съчетани с допълнително подпомагане защитния потенциал на организма и респективно коригиране на възникналите нарушения в естествените защитни механизми. Новите формулировки на изводите и приносите са добре направени и са доста по-

стегнати, като са избягнати подробните обяснения и тълкувания, каквито се наблюдаваха в техния първоначален вариант. Всички изводи са много конкретни и са непосредствен резултат на получените резултати и направеното обсъждане. Те имат висока практическа стойност и могат да подпомогнат изясняването на нарушенията в естествените защитни механизми при животни с ниска чувствителност към бактериалния антиген липополизахарид (мишки, плъхове) и при такива с висока чувствителност към него (praseta), както и да се проучат възможностите за тяхното коригиране. Проучена е и схема за контролиране на оксидативния стрес при мишки предизвикан от липополизахарид на *E. coli* чрез селективния COX-2 инхибитор нимезулид, както и схема за контролиране на силата на възпалителния отговор чрез блокиране на простагландиновата синтеза с индометацин. Установено е също, че прокалцитонинът при кучета може да бъде индикативен маркер за инфекция с Грам-негативни бактерии, а свободната сиалова киселина е важен маркер на острофазовия отговор.

Направените препоръки относно "механизмите за оценяването на силата на възпалителния отговор при Грам-негативни инфекции чрез включване на няколко инфламаторни биомаркери, като нуклеарния фактор капа-бета, азотния оксид, съотношението неутрофили към лимфоцити", както и препоръките относно "използването на H2 рецепторният антагонист циметидин като коректив на предизвиканите от липополизахаридното действие нарушения в организма", а също и "препоръката за контрол на инфекциозния процес да се прилага комплементарната терапия, която съчетава средствата за борба срещу самия патоген с други такива, коригиращи, възникналите от действието му нарушения в защитните системи на организма", могат да намерят важно приложение в реалната практика при контрола на инфекциозния процес и предизвиканите от него нарушения в естествените защитни механизми на организма.

В дисертационния труд са допуснати само някои малки правописни и други неточности, като например тази, че на фигура 32 черната стрелка сочи чернодробна клетка с кариомегалия, а не с кариолиза както е споменато и други незначителни грешки. Това обаче определено няма никакво отражение върху качеството на дисертационния труд и не намалява ни най-малко значението и сойността на проведените изследвания.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ.

В заключение мога безпристрастно и убедено да заявя, че представения дисертационен труд "Възможности за коригиране на нарушенията в естествените защитни механизми при животни с различна чувствителност към антигени на грам-негативни бактерии" напълно отговаря на изискванията за присъждане на научната степен "Доктор на науките" според изискванията на Закона за развитие на академичния състав в Република България и правилника

за неговото приложение относно научната степен “Доктор на науките”, а работната хипотеза, поставените цели и задачи в него са успешно изпълнени, като са направени подходящи оригинални приноси и препоръки с важно научно-приложно или теоретично значение. Мога също да потвърдя, че доцент Мария Йорданова Андонова е представила всички необходими документи във връзка с оценяването на дисертационния труд съгласно чл. 58 ал. 2 от Правилника за развитие на академичния състав в Тракийски университет, които не считам за необходимо да изброявам в детайли.

Както се вижда от представените наукометрични показатели доцент Андонова не само изпълнява, но и в много случаи преизпълнява препоръчителните критерии за получаване на научната степен “Доктор на науките”. Ръководител е на 2 научни проекта (препоръчителен минимум 1), водещ е в 10 статии при препоръчителен минимум 5 статии, има 8 статии в списания с импакт фактор и импакт ранг при препоръчителен минимум 5 статии, има приблизително общ импакт фактор и импакт ранг около 5 (импакт фактор 4,39 и импакт ранг 0,558 от приложените статии в дисертацията), каквито са препоръчителните критерии, участвала е в 9 научни форуми, 4 от които международни, при препоръчителен минимум 2, има 18 цитирания в импактови списания при препоръчителен минимум 5 и има общо 37 цитирания (с импакт фактор 36,23 от цитиранията) при препоръчителен минимум 15 цитирания. Това е най-убедителното доказателство че дисертацията има висока научна стойност и научен принос, както и че е привлякла интереса на научните специалисти работещи в съответната област.

Имайки предвид направените пилотни проучвания върху специфичните възможности за коригиране на нарушенията в естествените защитни механизми при биологични видове с различна чувствителност към Грам-негативни бактериални антигени, които са единствени по рода си сред научната общественост в България, както и публикуването на получените резултати вrenomirani международни списания с импакт фактор и/или импакт ранг, което е гаранция за високия научен принос на дисертационния труд, а така също и изпълнението и даже преизпълнението на всички препоръчителни критерии по отношение на изискуемите наукометрични показатели, **УБЕДЕНО МОГА ДА ПРЕПОРЪЧАМ ДА БЪДЕ ПРИСЪДЕНА НАУЧНАТА СТЕПЕН “ДОКТОР НА НАУКИТЕ” НА ДОЦЕНТ МАРИЯ ЙОРДАНОВА АНДОНОВА.**

26/11/2017

Стара Загора

(Проф. дкн Стойчо Димитров Стоев)