

РЕЦЕНЗИЯ

на дисертационен труд за получаване на научната степен „Доктор на науките” в област на висше образование „Аграрни науки и ветеринарна медицина”, професионално направление: 6.4. Ветеринарна медицина, научна специалност “Патология на животните”

Автор на дисертационния труд: доц. д-р Мария Йорданова Андонова от катедра „Обща и клинична патология на животните”, секция „Функционална патология и имунология” във ВМФ на Тракийски университет в Стара Загора

Тема на дисертационния труд: „Възможности за коригиране на нарушенията в естествените защитни механизми при животни с различна чувствителност към антигени на Грам-негативни бактерии”

Член на Научно жури (Зап. № 2189/27.09.2017): проф. двмн д-р Теодора Петрова Попова, Лесотехнически университет, гр. София, област на висше образование „Аграрни науки и ветеринарна медицина”, професионално направление: 6.4. Ветеринарна медицина, научна специалност “Епизоотология, инфекциозни болести и профилактика на заразните заболявания по животните”.

• Кратко представяне на автора на дисертационния труд..

Доц. Мария Йорданова Андонова е родена в гр. Стара Загора. Завършила е гимназия в родния си град със златен медал, а висше образование - през 1981 год. във Ветеринарномедицински факултет на ВИЗВМ, Стара Загора. В продължение на година и половина е работила като ветеринарен лекар в Обединено предприятие за хибридни свине в Стара Загора.

На 16.02.1983 г. след успешно издържан конкурс е постъпила като редовен аспирант в катедра „Патологична физиология на домашните животни”, където през 1987 г. е защитила дисертация на тема “Върху причините за ниската ефективност на имунния отговор спрямо Грам-негативни ендотоксиносвобождаващи причинители” с научен ръководител проф. Васил Иванов и е придобила научната степен „Кандидат на биологическите науки”.

Доц. Мария Андонова провежда лекционен курс и практически занятия по дисциплините Имунология и Функционална патология във ВМФ в ТрУ. Съавтор е в 1 учебник по имунология и 3 ръководства за упражнения на студентите. Разработила и внедрила е нови опитни постановки и тематични единици за практическите упражнения

и програмни тестове за обучение на студентите. Разработила и апробирала е редица лабораторни методи в катедрата.

През 2011 г. е наградена с грамота – отличие „Доцент на 2011 год.“.

Автор е на **81** научни труда, които са в областта на научните й интереси – бактериални инфекции, имунитет, метаболизъм – биомаркери, нарушения, корекции и адаптация на животните. Публикациите, реферираны и индексирани в световни литературни източници, са **19**, тези в научни списания с импакт фактор са **14** (IF = **8.260**), в научни списания с импакт ранг- **5** (SJR=0.901) - общо IF+SJR=**9.161** от 19 публикации. Публикациите, реферираны и индексирани във вторични литературни източници са **45**, в сборници – **12**, като **3** от тях са отпечатани в пълен текст в чуждестранни сборници с доклади от научни форуми и **9** - в български сборници. Доц. Мария Андонова е самостоятелен автор на **6** труда; водещ автор - на **35** публикации, втори автор – на **20**, трети автор – на **17** и на други позиции – в **4**. Има H- index **6**.

Нейни публикации са цитирани в **173** научни труда, като **64** от тях са с IF или SJR, **81** - без IF. Цитатите в дисертации са **28**, от които **21** в български дисертации и **7** - в дисертации от чужбина. IF=105.547 от цитирания, SJR=0.181.

Доц. Мария Андонова има три научни награди за публикации:

1. Грамота за най-добра научна публикация в секция “Ветеринарна медицина и животновъдство” на Осмата национална научна конференция “Съвременни тенденции в развитието на фундаменталните и приложни науки”.
2. Награда за постер - 7th World congress of Veterinary anaesthesia, 2000 Sep. 20-23, Берн, Швейцария, с участие на 75 страни.
3. Top 25 Hottest Articles - Veterinary Science and Veterinary Medicine Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases, July to September 2014.

Участвала е в **39** научни форума. От тях - в чужбина с доклад или постер: **19** (лично докладвани – **7**). в България с доклад или постер: **20** (лично докладвани – **7**). Има участия в **14** научноизследователски проекта, **13** от които са университетски и **1** е национално финансиран. Ръководила е **2** научни проекта. Рецензириала е **1** дисертация, **1** хабилитация, **2** учебника, **1** ръководство за упражнения, **22** научноизследователски проекти и на научни отчети на НИП и **54** научни статии.

Доц. М. Андонова има две специализации в български институти (в ИБИР – БАН през 1984 г. и в Институт по обща и сравнителна патология – БАН през 1987 г.) и две – в чужбина (в Лайпциг през 1988 г. и в Братислава, Чехия, Институт “Иванка Придунай” през 1989 г.).

Участвала е във Факултетно-научен съвет – ВМФ, Стара Загора през 2008-2011 г. и е била научен секретар. Също така е била научен секретар на научни конференции на две Юбилейни научна сесии на Ветеринарномедицински факултет и висше ветеринарномедицинско образование в България през 2003 и 2008 г.

Член е на редколегията на Bulgarian Journal of Veterinary Medicine от 2008 г. досега, както и на редакционната колегия за летопис „90 години Ветеринарномедицински факултет 1923-2013“. Член е на СНС по Ветеринарна медицина – 2004-2008, на НФС на ВМФ през периодите 2008-2012 и 2012 -2016 г., на Комисия по научната дейност във ВМФ от 2004 г., председател е на Научна комисия на ВМФ по направление “Медикобиологични науки”, от 2008 г., член е на Комисия за контрол върху процедурите за развитие на академичния състав ПРАСТрУ през 2010-2011 г., на Комисии за допускане на кандидатите до участие в конкурс – съгласно ПРАСТрУ през 2010-2011 г. и на комисията по научноизследователска дейност към ВМФ – 2016 - 2017 г.

• **Обща характеристика и структура на дисертационния труд.**

Дисертационният труд е представен на 303 страници. Проектът е много добре оформен и включва необходимите раздели съгласно общоприетите изисквания, общо 14 на брой. След заглавната страница на три страници са описани използваните съкращения, които много коректно са дадени на кирилица и на латиница. Следват съдържанието (на 5 ½ стр.) и уводът (2 стр.). Литературният преглед е представен на 72 стр., целта, изследователската хипотеза и задачите – на 3 ½ стр., използвани материали и методи – на 30 стр., получените резултати са отразени на 84 стр., обсъждането – на 43 стр., направените изводи са 18 на брой, представени на 5 стр., приносите са 15 на брой, написани на 2 ½ стр., следвани от 6 препоръки за практиката на 1 стр., литературният указател обхваща 50 стр., на последните 9 стр. са представени публикациите във връзка с дисертацията, участията в научни форуми, цитиранията във връзка с дисертацията и ръководството на изследователски проекти. Дисертационният материал е структуриран целесъобразно и правилно. Прави впечатление високият академичен стил на автора.

• **Актуалност на проблема.**

Темата на представената дисертация е оригинална и особено актуална. Тя обхваща важни и недостатъчно проучени аспекти, засягащи борбата с бактериалните патогени посредством подпомагане на защитните механизми на организма. Свързана е с

проучване на нови подходи за борба със заразните заболявания, което е особено важно днес, когато ефективността на антибиотиците все повече намалява. Насочването на исследователските усилия към тази сфера е много подходящо и навременно, тъй като антибиотичната резистентност се превърна в един от най-сериозните проблеми на съвременната медицина. По тази причина опасността от поява на нелечими инфекции е реална. Днес голяма част от бактериите показват резистентност поне към един от обичайно използвани антибиотици, а някои патогенни микроорганизми имат устойчивост към всички одобрени медикаменти, като за лечение на заболяванията, които предизвикват, могат да се използват само експериментални антибиотици. На Световната здравна асамблея (СЗА) през май 2015 бе подчертано, че микробната резистентност заплаща самото ядро на съвременната медицина, а малко заместващи продукти са в процес на подготовкa. Антибиотичната устойчивост, особено широкото разпространение на бактериалните щамове с множествена резистентност, има сериозни последствия като увеличаване на заболяемостта от инфекции, нарастване на смъртността и увеличаване на разходите за лечение. Усилията на повечето изследователи са насочени към търсене на нови средства за етиотропна терапия, но много важна страна в борбата с инфекциите е засилването на защитния потенциал на организма и коригиране на нарушенията в имунната хомеостаза, обект на настоящата дисертация. Тези проблеми налагат не само опити за създаването на нови поколения антимикробни препарати, но и на радикално нови подходи в профилактиката и терапията на инфекциите, към което е насочен настоящия труд. Също така все по-често срещано е съчетаване на антибиотична полирезистентност и повишена вирулентност при причинителите на заразните заболявания. В този аспект едни от най-значимите днес Грам-отрицателни патогени са *Escherichia coli* и *Pseudomonas aeruginosa*, които са и сред най-бързо развиващите резистентност към антимикробни средства. Авторът много правилно се насочва към използване на тези микроорганизми в своите изследвания.

• Степен на познаване на състоянието на проблема и творческа интерпретация на литературния обзор.

Уводът на дисертацията умело въвежда в темата. Той е добре написан и показва високата компетентност на автора по темата на разработката. Литературният преглед е обстоен, обхваща 72 стр. и от него личи високата информираност на автора по темата. Той е много добре структуриран и написан ясно и синтезирано. Включва четири основни раздела, всеки от тях с по няколко подраздела, в които подробно са отразени

литературните данни, свързани с темата на разработката. Направена е пълноценна характеристика на Грам-отрицателните бактерии и в частност на *P. aeruginosa* и *E. coli*, разгледани са видове животни с различна чувствителност към микроорганизмите от тази група и нарушаването на естествените им защитни механизми при действието на такива бактерии и основно на *P. aeruginosa*, представени са маркерите на инфекциите с тяхно участие, биомаркерите на възпалителната реакция на организма, терапевтичните подходи за контрол на Грам-отрицателни опортюнистични бактерии (антибиотици, пробиотици, противовъзпалителни медикаменти), новите стратегии за управление на инфекциозния процес и др. Разгледани са литературни данни основно от чуждестранни източници, вероятно поради малкото изследвания у нас по тези въпроси.

Прегледът на литературата уместно завършва с обобщение, изложено на 3 стр., в което много умело е анализирана представената информация. Очертани са основните проблеми, свързани с диагностиката и терапията на инфекциите с участие на Грам-негативни патогени. Основните антигени на *P. aeruginosa* и *E. coli*, действащи върху защитните механизми на животни с различна чувствителност към тях, много оригинално и успешно са представети схематично на фигура 1 в тази част на дисертацията. Също така е изтъкната необходимостта от създаване на бързи, ефективни и достъпни диагностични тестове в допълнение към стандартните микробиологични методи, разработване на ефикасни средства за блокиране на някои фактори на вирулентност на основни Грам-негативни патогени, на нови биомаркери за ранни промени в имунната хомеостаза на пациентите преди клиничната проява на тези инфекции, изясняване на ролята на бактериалните липополизахариди при животни с ниска и висока чувствителност към тях с оглед оптимизиране на терапевтичните подходи и оценка на значението на комплементарната терапия на инфекциите (съчетано приложение на антимикробни средства и такива, коритиращи възникналите нарушения в защитните системи на пациентите). Ясно са очертани основните проблеми, свързани с възможностите за управляване на инфекциозния процес, даващи основание за определяне на целта и задачите на дисертацията.

• **Цел, задачи, хипотези и методи на изследване. Съответствие на избраната методика на изследване с поставената цел и задачи на дисертационния труд.**

Целта на работата е точно и ясно формулирана. Тя обхваща проучване на етапите на развитие на инфекциозния процес на опитни модели с животни с различна чувствителност към антигени на Грам-отрицателни патогени и разработване на нови

схеми за корекция на установените нарушения в защитните механизми, съдействащи за повишаване на ефективността на антибактериалното лечение. **Изследователската хипотеза** включва експерименти с животни с разлики в чувствителността към антитела на Грам-отрицателни бактерии с оглед установяване на ефекта от коригиране на нарушения в едно основно звено на естествената резистентност върху останалите такива. Във връзка с това авторът си е поставил **четири основни задачи**, всяка от които включва по няколко подзадачи. Те точно очертават предвидените изследвания, необходими за получаване на полезни за практиката резултати и разработване на ефикасни схеми за коригиране на нарушенията в защитните механизми и съдействие за повишаване на ефекта от антибактериалното лечение. Задачите включват експерименти с мишки, плъхове и прасета, третирани с липополизахариди от *E. coli*, изследване на нарушенията на основни механизми на естествената резистентност и възможностите за коригирането им с определени нестероидни противовъзпалителни средства. Очертани са също и изследвания върху развитието на инфекциозния процес при кучета, инфицирани с *P. aeruginosa* и изпитване на различни подходи за терапия и контрол на инфекцията.

В раздела „**Материали и методи**“ са описани използваните бактериални антитела, препарати и опитни животни. Експериментите с животни са проведени при спазване на изискванията на Наредба 20/2012 за защита и хуманно отношение към опитните животни и Закона за ветеринарномедицинската дейност (ДВ 87/2005). Експерименталните модели са правилно структурирани, много добре описани и илюстрирани с ясни схеми. Тъй като липополизахаридите (ЛПЗ) на Грам-отрицателните бактерии са основен фактор на тяхната патогенност, те много правилно са подбрани за приложение при проведените експерименти *in vivo* с видове животни с различна чувствителност към тях. Подробно са представени взиманите биологични пробы, както и времето и начина на получаването им. Добре са описани изследваните кръвни показатели и методите за определянето им. Те са класически и съвременни, целесъобразно подбрани, включително спектрофотометрични, радиоимунологични, серологични (ELISA, ИФМ), микроскопски, турбидиметрични, патохистологични и др. методи. Поставяни са необходимите контроли. Посочени са формулите за определяне на някои от изследваните кръвни показатели. Използвани са също автоматичен биохимичен анализатор и кръвно-газов анализатор. Приложени са значителен брой методи. Прави впечатление, че много от тях са апробирани и въведени от автора в хода на разработване на настоящия труд. Много коректно са посочени лабораториите и сътрудниците, които

са участвали в някои от изследванията. Резултатите са обработени статистически посредством ANOVA, post-hoc test, LSD-test и софтуери за статистика.

- **Онагледеност и представяне на получените резултати.**

Резултатите от извършените голам брой изследвания напълно съответстват на поставените задачи. Те са много добре описани и систематизирани в съответния раздел и са обобщени и отразени в **16 таблици и 63 фигури**, от които много ясно могат да се видят и сравнят получените данни. В тях са обобщени и сравнени огромно количество данни от различните групи експерименти. Част от фигурите са цветни снимки, **27** на брой, отлично онагледявачи резултатите от хистологичните изследвания на въздействието на бактериалните липополизахариди и нимезулид, приложени самостоятелно или в комбинация, върху различни тъкани на експерименталните мишки.

Умело са представени и сравнени резултатите от различните групи изследвания в съответствие на поставените задачи. Много ясно и детайлно са изложени данните от експериментите за проследяване на измененията в антиоксидантния статус и липидната пероксидация при мишки и плъхове след третиране с ЛПЗ от *E. coli* и ефектите от приложение на нестероидните противовъзпалителни средства нимезулид и индометацин. Подробно са представени също и резултатите от изследванията при прасета, третирани със същия бактериален ЛПЗ. Ясно са диференцирани установените нарушения в естествените защитни механизми при тези животни, показващи висока чувствителност към този бактериален ендотоксин (за разлика от мишките и плъховете, които са ниско чувствителни към него) и проучените възможности за коригиране на нарушенията посредством приложение на нимезулид и индометацин. Интерес представляват също резултатите от експериментите при кучета, инфициирани с *P. aeruginosa*. Проучено е развитието на инфекциозния процес и измененията в естествените защитни фактори. Особено ценни са и данните от сравнителните проучвания на ефектите от три терапевтични подхода – конвенционален, алтернативен и комплементарен (комбиниран).

Умелото и прегледно обобщаване на огромното количество информация от всички проведени изследвания и представянето ѝ в ясен и сравним вид в таблиците и фигурите заслужава много висока оценка.

- **Обсъждане на резултатите и използвана литература.**

В раздела „Обсъждане“ е направен пълноценен анализ на получените резултати и сравнение с данни от голям брой други автори, предимно чуждестранни. От него личи високата информираност и компетентност на автора, умението му задълбочено да анализира и обобщава информацията, като прави ценни изводи и препоръки за практиката. Обсъждането на резултатите е развито в последователност, съответстваща на изследователските задачи. От този раздел също впечатлява високият академичен стил на автора при отразяването, обобщаването и тълкуването на огромното количество информация. Логичната последователност на анализа на резултатите в този раздел от работата позволява разкриване на нарушенията в ключовите звена на естествената защита и разработването на успешни стратегически подходи за тяхното коригиране. Това прави този труд изключително полезен от теоретична и практическа гледна точка.

От резултатите от огромните по мащаб изследвания авторът е направил 18 извода. Те са представени подробно, като ясно и пълно отразяват най-важното от получените резултати.

От извършените изследвания и анализи в дисертационния труд произтичат 15 приноса, добре формулирани от автора. Прави впечатление значителния брой оригинални приноси, общо 12. Потвърдителни са само останалите три. Това прави настоящия труд особено актуален и с голямо научно и приложно значение в глобален аспект.

От дисертацията произтичат шест препоръки за практиката, които намирам за много полезни. Те са ясно представени и имат ценна практическа насоченост. Приложението им в практиката би имало значителна полза при диагностиката и терапията на инфекциите, причинявани от Грам-отрицателни бактерии.

Литературният указател обхваща особено голям брой източници, общо 925, 20 от които са на кирилица и 905 - на латиница. Прави впечатление значителният дял на цитираните публикации от последните 10 години – 46 % от всички в списъка. Почти 20% от всички цитирани източници (182 бр.) са от последните 5 години, което показва добрата осведоменост на автора за съвременното състояние на проблема, както и актуалността на темата.

• Критични бележки и въпроси.

Критичните ми бележки са предварително посочени подробно в Отзив за проекта на настоящия дисертационен труд, представен на предварителната защита и са взети пред вид от автора при окончательното му оформяне.

Установяват се обаче някои пропуски в представените материали за цитираните публикации, свързани с дисертацията. Някои от цитиранията не са приложени пълно (с библиографията на трудовете, цитиращи посочените публикации, свързани с дисертацията) като цитати № 3, 8, 9, 28, 34. Вероятно достъпът до съответните публикации е платен и е трудно да се получат. В такъв случай е желателно представяне на справка за цитиранята от НАЦИД, от Scopus или Web of Knowledge. Цитат № 16 не се открива в литературния указател на представеното копие на статия. Липсват копия на цитати № 21 и 25. Според справката на автора четири от цитиранията са в дисертации в чужбина, но при прегледа на документите се установява, че всъщност две от тях са в дисертации и две – в магистърски дипломни работи в чужбина. Не са представени резюмена или копия от участията на научни форуми във връзка с дисертацията. Тези пропуски обаче по никакъв начин не омаловажават настоящия труд.

- **Лични впечатления.**

Впечатленията ми от професионалното развитие на доц. Андонова датират от моите студентски години, от самото начало на нейния творчески път като млад учен и преподавател. Още тогава се възхищавах на нейната ерудиция, трудолюбие, прецизност и себеотдаване в работата. Тези впечатления се затвърдиха през годините и днес за мен е чест да бъда свидетел на този пореден връх в нейното творчество и кариера. Радвам се на възможността да се запозная отблизо с настоящия дисертационен труд, който безспорно заслужава висока оценка.

- **Преценка на публикациите по дисертационния труд: брой, характер на изданията, в които са отпечатани. Отражение в науката – използване и цитиране от други автори.**

Представени са 15 публикации във връзка с дисертацията. От тях две са на български и 13 на английски език. Една от публикациите е самостоятелна, в 9 от останалите авторът на дисертацията е водещ, в две е на второ място и в три – на трето и последващи места, от което личи неговото лично участие при разработването на дисертацията. Осем от статиите са отпечатани в списания с импакт фактор и импакт ранг. Общий импакт фактор на публикациите, свързани с дисертационния труд, е 4,391, а

импакт рангът – **0,558** или общо 4,949. Това е ясен показател за високото ниво на научната продукция във връзка с дисертацията и отражението ѝ в науката в световен мащаб. Представени са копия от публикациите.

В публикациите и в дисертационния материал се очертава добре активното участие и съществения личен принос на доц. Андонова. Всичко това дава основание за убедеждението ми, че тя е нейно лично дело.

Представен е списък с **9** участия на научни форуми във връзка с дисертацията, като **5** от тях са национални и **4** – международни. В четири от участията авторът е водещ.

Тези публикации са напълно достатъчни за защита на дисертационния труд.

Приложеният списък на цитиранията на публикации във връзка с дисертационния труд включва общо 37 цитата, като 18 от тях са в списания с импакт фактор. Осем от цитиранията са в списания без импакт фактор. Впечатлява не само този достоен брой цитирания, но и импакт факторът от статиите, в които са цитирани – общо **36,234** и импакт ранг **0,181**, като общият резултат е 36,415. Представени са копия от цитиранията на публикациите.

В допълнение към тези високи резултати авторът на дисертационния труд е представил данни за ръководство на два изследователски проекта.

Има представени и данни за две международни научни отличия, свързани с дисертацията. Едното е за постер на 7-ия световен конгрес по ветеринарна анестезия през 2000 г. (Dinev, D., M. Andonova. Influence of halothane anaesthesia on thromboxane B₂, activated partial prothrombin time, prothrombin time and several parameters of the non-specific immunity in horses undergoing abdominal surgery. *7th World Congress of Veterinary Anaesthesia*, Sep. 20-23, 2000, Швейцария), а другото – **18-то място в Топ 25 най-актуални статии за 2014 г.** на Veterinary Science and Veterinary Medicine на сп. „Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases“ за обзорната статия *Andonova, M., V. Urumova, 2013. Immune surveillance mechanisms of the skin against the stealth infection strategy of *Pseudomonas aeruginosa* – Review. 2013. Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases*, 36, 433-448. DOI: 10.1016/j.cimid.2013.03.003. (Импакт фактор - **2.107**)

• Авторефератът е представен на 76 страници. Той включва необходимите раздели съгласно общоприетите изисквания, както следва: Списък на използваните съкращения – 3 стр., Съдържание – 1 стр., Увод – 1 стр., Цел и задачи – 2 стр., Материал и методи – 8 ½ стр., Резултати и обсъждане – 50 стр., Изводи, Приноси, Препоръки за практиката и списък на публикациите във връзка с дисертационния труд,

участия в научни форуми и Резюме на английски език. Резултатите са онагледени с 33 фигури и 18 таблици, които обобщават основната част от извършените изследвания. Представеният автореферат е добре оформлен структурно и естетически. Той отразява обективно структурата и съдържанието на дисертационния труд.

В заключение считам, че представеният от доц. д-р Мария Йорданова Андонова дисертационен труд отговаря на изискванията на ЗРАСРБ и Правилника на ТрУ. Той е напълно достатъчен по обем и е изпълнен на високо съвременно ниво. Темата е актуална, използвани са значителен брой материали, различни класически и съвременни методи, проведени са редица експерименти. Изследванията са извършени на съвременно ниво, а получените резултати са представени, сравнени и анализирани умело и компетентно. От тях произхождат много полезни за практиката приноси и препоръки. Дисертацията представлява мащабно комплексно проучване на някои нарушения в естествените защитни механизми при животни с различна чувствителност към антигени на Грам-отрицателни бактерии и възможности за коригирането им. Тя е резултат на огромен и прецизен труд, изпълнен на съвременно ниво и заслужаващ висока оценка. От изработката, написването, отразяването и тълкуването на резултатите личи високата компетентност на автора и големия труд, положен от него. Резултатите, приносите и препоръките за практиката, произтичащи от дисертацията, са важен принос в борбата с инфекциите, причинявани от Грам-отрицателни бактерии, което е особено ценно в контекста на намаляващия ефект на антибиотикотерапията днес. Прави впечатление също високият академичен стил на автора, прегледното оформяне на представените документи за защитата на дисертацията, както и преизпълнението на много от препоръчителните критерии за получаване на научната степен „Доктор на науките”.

Всичко това ми дава основание да дам своя положителен вот и да предложа на уважаемите членове на Научното жури също да гласуват положително и да присъдят на доц. д-р Мария Йорданова Андонова научната степен „Доктор на науките” в област на висше образование „Аграрни науки и ветеринарна медицина”, професионално направление: 6.4. Ветеринарна медицина, научна специалност “Патология на животните”.

14.11.2017 г.

Изготвил:

(проф. д-р Т. Попова, двмн)

