

## РЕЦЕНЗИЯ

за дисертационния труд на тема:

„Взаимодействие между антибиотици и пробиотици и влиянието им върху  
антимикробни пептиди в храносмилателната система на птици ”  
на редовен докторант д-р Ивелина Павлова Христова – магистър по ветеринарна  
медицина от Катедрата по фармакология, физиология на животните и физиологична  
химия при Ветеринарно-Медицински факултет на Тракийски университет –  
Стара Загора, за получаване на образователната и научна степен „Доктор”

от проф. д-р Дамянка Петева Гетова-Спасова, д.м.н.  
Катедра по фармакология и клинична фармакология,  
при Медицински факултет, Медицински университет – Пловдив

Настоящата рецензия е изготвена в съответствие със Закона за развитие на академичния състав /ЗРАСРБ/, Правилника за приложението му /ППЗРАС/ и Правилника за условията и реда на придобиване на научни степени и заемане на академични длъжности в Тракийски университет Стара Загора.

Предложения за защита дисертационен труд се състои от 155 страници и е конструиран по класическата схема – Увод 3 стр, Литературен обзор 41 стр, Цел и задачи – 1 стр, Материал и методи – 22 стр, Резултати – 23 стр, Обсъждане – 30 стр, Обобщение 2 стр, Изводи – 2 стр, Приноси – 2 стр и Цитирана литература от 299 източника, от тях 1 български и останалите на английски език (от тях 15 са български автори предимно от Катедрата).

Уводът кратко и ясно очертава необходимостта от проучване на взаимодействието между антибиотици и пробиотици в гастроинтестиналния път на птици отглеждани в птицеферми и предназначени за масова консумация.

Обзорът е написан компетентно, с добро познаване на същността на проблема. Проследени са основните характеристики на 2 групи антибиотици –

флуорхинолони и тетрациклини. Особен интерес представлява енрофлоксацин, 3-то поколение широкоспектърен флуорхинолон, с добре позната фармакокинетична характеристика и интересна фармакодинамика – повлияващ топоизомераза II в G(-) бактерии, а в G(+) – топоизомераза IV. Прилага се за лечение на колибацилни и микоплазмени инфекции при птици, прибавен към водата за пиене на животните. Бързата му резорбция, продължителния му ефект и слабия му метаболизъм го извеждат на преден план като средство за избор при лечение на тези инфекции.

В обзора подробно е разгледан и тетрациклин от 2-ро поколение доксициклин, показващ също висока бионаличност, продължителен ефект, удобен начин на прилагане във водата за пиене, показващ добър ефект спрямо колибацили и хронична респираторна болест при пилетата.

Третата част на обзора д-р Христова се спира на условията, на които трябва да отговаря идеалния пробиотик. Подчертано е, че прилагането на пробиотици от групата на лактобацилите повишава прираста на животните в птицефермите. Умело е отбелязано, че пробиотиците продуцират антибактериални субстанции, прикрепват се към интестиналната мукоза, предотвратяват колонизацията на патогени, неутрализират ентеротоксините и стимулират имунната система. Застъпено е съвременното виждане, че пробиотичните бактерии продуцират бактериоцини и дефензини – малки пептиди, които са активни срещу патогенни бактерии, гъбички и вируси и се явяват стабилизатори на чревната бариерна функция. Авторката се спира и на модерните напоследък комбинации на лактобацили и синергично действащи фитопродукти.

В последната част на обзора е проследено взаимодействието между пробиотици и антибиотици, както и ролята на пептидният транспортен протеин-1 (Per T1) и чернодробния антимикробен пептид-2 /LEAP-2/, играещи роля във фармакокинетиката и фармакодинамиката на антибиотиците. Тези пептиди проявяват в значителна степен бактерицидна активност срещу стрептококи и стафилококи и активно участват във вродения имунитет. Критичният преглед показва липсата на данни за ефекта на антибиотиците енрофлоксацин и доксициклин и пробиотиците върху експресията на тези протеини в червата на пилета.

Литературният обзор е написан с критично отношение към намерените данни и ясно очертаване на актуалността на избраната тема. Особено добро впечатление прави познаването и цитирането на научните разработки на научния ръководител и другите колеги от Катедрата.

От направеният преглед на литературата произтичат съвсем логично целта и задачите на дисертационния труд, които са много добре формулирани. За постигане на целта на проучването са формулирани 5 задачи.

Методичната част е богата и показва високата професионална подготовка на дисертанта. Експериментите са проведени върху 240 пилета от 2 породи. За тяхното извършване е получено разрешение от Етичната комисия на Тракийски университет, Стара Загора. Експерименталният дизайн на 2-те групи опити е акуратно описан. Използвани са съвременни аналитични методи като HPLC за определяне на концентрациите на енрофлоксацин и активният му метаболит ципрофлоксацин, както и на доксициклин в серум и в тъкани. Особено модерен е PCR анализа с изолиране на РНК и проследяване синтеза на кДНК чрез обратна транскрипция в черен дроб и черва на птиците. Извършен е и количествен PCR анализ за установяване експресията на Per T1 и LEAP-2 на пилета. Описан е и фармакокинетичния анализ с прилагане на компартментен и некомпартментен методи с изчисляване на основните фармакокинетични параметри като площ под кривата, максимална плазмена концентрация и време за достигането ѝ и т.н. Количествено са определени фармакокинетични-фармакодинамични индекси и генната експресия от PCR анализа.

Статистическата обработка на получените резултати е на съвременно ниво с високи нива на достоверност.

Собствените експериментални резултати са представени изключително съвестно, богато илюстрирани със 14 фигури и 19 таблици. При описването на резултатите личи компетентността на дисертанта и личното му участие в планирането, провеждането и анализирането на експериментите. Собствените данни са точно и акуратно описани, съответстващо на илюстрационния материалва. Определените важни фармакокинетични параметри при прилагане на

антибиотиците самостоятелно или заедно с лактобацили са анализирани с прилагане на некомпартментен анализ, както личи от фигурите и таблиците.

Съвременен подход е прилагането на *in vitro* изследвания, които да подкрепят проведените фармакологични проучвания. Определянето на серумните нива на антибиотиците, техните фармакокинетични характеристики и взаимодействието с пробиотици от групата на лактобацилите допринася за окончателното оформяне на разработвания проблем. Тъканната експресия на Pgp T1 в присъствие на енрофлоксацин или доксициклин /сам или заедно с пробиотик/ нараства значимо, докато експресията на LEAP-2 нараства само при прилагане на доксициклин, но не и при енрофлоксацин. Доказаните промени характеристиките на антибиотиците под влияние на пробиотик позволяват да се направи сериозна дискусия на получените резултати и се установи потенциалното имуномодулиращо действие на пробиотика.

Обсъждането е направено стегнато и компетентно. Собствените експериментални резултати са интерпретирани в светлината на съвременните данни от литературата по въпроса. Личи способността и израстването на д-р Христова като млад учен да представи своите данни сравнително с известните от литературата и на места да докаже, че получените различия се дължат на разлики в дизайна на експеримента, вида животни или критериите за отчитане на ефекта. Добре са интерпретирани данните от експериментите при самостоятелно прилагане на антибиотик и при комбинираното му прилагане с пробиотик върху експресията на транспортния протеин и LEAP-2, което спомага и за по-добър прираст на животните. Доказани са промени на молекулно ниво под влияние на лактобацилите и комбинирането им с енрофлоксацин или доксициклин. Тези промени спомагат за стимулиране на вродения имунитет на пилетата.

Умело направеното **обобщение** в края на обсъждането от 2 страници, показва способността на авторката да направи заключения от собствените си експериментални данни, а именно че прилагането на енрофлоксацин сам или с пробиотици има позитивен ефект върху прираста на птиците и повишава експресията на тези протеини, а прилагането на доксициклин с лактобацили не

само повишава експресията на протеините, но и стимулира вродения имунитет. Това води логично до формиране на изводите на дисертационния труд.

**Изводи и приноси** - представени са 9 извода, които отговарят на получените резултати. Формулирани са и оригинални приноси – 5 с научен характер и 2 с приложен. Изводите и приносите са точно формулирани. Все пак считам, че биха могли някои изводи да се обединят в един, например 8 и 9.

#### **Научна продукция свързана с дисертацията**

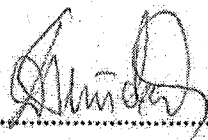
Д-р И. Христова има 4 научни статии, свързани с дисертационния труд, от които 3 са на английски език в реномирани научни списания и 2 от тях са с импакт фактор и 1 статия на български език в сборник. Дисертантката е участвала с 5 научни съобщения на научни конференции 2 у нас и 3 в чужбина. Във всички научни съобщения и в 3 от статиите в научни списания д-р Христова е водещ автор. Отбелязано е и 1 цитиране на нейна статия. Тя участва и в разработването на вътре-университетски научен проект, свързан с тематиката на дисертацията.

**Авторефератът** напълно съответства на предложения дисертационен труд и нямам забележки към него. Добро впечатление прави резюмето на английски език в автореферата, което спомага за по-голямото популяризиране на този труд.

**Крайно становище:** Дисертационният труд съдържа теоретични и практически обобщения, касаещи експерименталното изследване на 2 антибиотика – енрофлоксацин и доксициклин, както и съвместното им прилагане с пробиотици при метафилактична употреба на птици. Повечето от получените резултати са оригинални и имат приносен характер. Формулираните изводи и приноси отразяват високата стойност на дисертацията. Убедено препоръчвам на членовете журито за гласуват положително и на членовете на Факултетния съвет на ВМФ при Тракийски университет, да утвърдят дисертационния труд на д-р Ивелина Христова „Взаимодействие между антибиотици и пробиотици и влиянието им върху антимикробни пептиди в храносмилателната система на птици ” и тя да получи образователната и научна степен „Доктор”.

29.03.2016г

Пловдив



.....

Проф. Д-р Д. Гетова-Спасова, дмн.