

СТАНОВИЩЕ

от

проф. дн МИХНИ ЛЮЦКАНОВ – катедра „Ветеринарна микробиология, инфекциозни и паразитни болести“ при ВМФ къв Тракийски университет гр. Стара Загора

относно: Дисертационен труд на тема „**ВЪЗМОЖНОСТИ ЗА КОРИГИРАНЕ НА НАРУШЕНИЯТА В ЕСТЕСТВЕНИТЕ ЗАЩИТНИ МЕХАНИЗМИ ПРИ ЖИВОТНИ С РАЗЛИЧНА ЧУВСТВИТЕЛНОСТ КЪМ АНТИГЕНИ НА ГРАМ-НЕГАТИВНИ БАКТЕРИИ**“, представен от доц. д-р Мария Йорданова Андонова за присъждане на научната степен „**Доктор на науките**“ по научната специалност „Патология на животните“, професионално направление 6.4. „Ветеринарна медицина“, област на висшето образование 6. „Аграрни науки и ветеринарна медицина“

Предоставеният ми за оценяване дисертационен труд на тема „**Възможности за коригиране на нарушенията в естествените защитни механизми при животни с различна чувствителност към антигени на Грам-негативни бактерии**“ с автор доц. д-р Мария Андонова от катедра „Обща и клинична патология“ на ВМФ при Тракийски университет е написан на 303 стандартни страници. Резултатите са онагледени с 16 таблици и 63 фигури. Библиографската справка съдържа 925 заглавия, от които 905 са на латиница и 20 на кирилица. Преобладаващата част от тях са от последните 10 години, което е атестация за добра осведоменост със съвременни сведения по отделните аспекти на разглеждания проблем.

Дисертационният труд притежава класическата структура и съдържание на възприетия у нас традиционен модел, с добра балансираност между отделните раздели – увод, литературен обзор, цел и задачи, резултати, и обсъждане. Направени са 18 извода, а също и 15 приноси, от които 12 оригинални и 3 потвърдителни. Към практиката са насочени 6 препоръки.

Темата на дисертацията намирам за актуална, тъй като касае проучвания върху реактивността на различни животни към антигени на две актуални Грам-негативни бактериални разновидности - *E. coli* и *P. aeruginosa*, и възможностите за повлияване в положителна посока на някои от най-активните механизми на естествената защита на макроорганизма. Търсено е на алтернативи в тази посока е от особена важност предвид нарастващите проблеми, свързани с приложението на класическите антимикробни средства и особено на антибиотиците и синтетичните химиотерапевтици. В такъв контекст е и целта на разработката, която е ясно и точно дефинирана. Същото важи и за отделните задачи, формулирани за постигането на тази цел. При разработването на последните е използван съвременен методологичен инструментариум, включващ апаратни хематологични и биохимични изследвания на кръвни и серумни пробы,

имунологични изследвания, патохистологични изследвания на органни проби при това на няколко вида експериментални домашни животни – мишки, плъхове, кучета и прасета. Прилагани са няколко експериментални модели за изследване промените в хомеостазата, както и за мониториране на естествените механизми на защита на макроорганизма, а също и за оценяване възможностите за повлияването им.

За целите на проучването по установените правила и при спазване на етичните норми са получени и разработени голям брой биологични преби. Анализирани са поредица от показатели, като за всеки един е направена и съответната статистическа обработка на получените данни. Всичко това е гаранция за получаване на безспорни резултати, които са умело обсъдени в контекста на съвременните проучвания на други изследователи.

В резултат на проучването е установено, че липополизахаридът (LPS) като компонент на външната мембрана на бактерията *E. coli*, серотип O111:B4, приложен интраперitoneално на мишки понижава при тях активността на ензима каталаза и редуцирания глутадион, а в същото време увеличава малондиалдехида и индекса на оксидативния стрес. При неговото действие антиоксидантните възможности на албумина и общия антиоксидантен капацитет на плазмата са запазени, но глюкозната хомеостаза е нарушена. При плъховете същият този липополизахарид води до рязко повишаване на плазмените концентрации на PGF2 и IL1- β , активиране на лизоцима, като в същото време оказва негативен ефект по отношение на клетъчните елементи на естествена та защита. При този вид лабораторни животни LPS води до отчетливо повишаване на лактата в кръвта, предизвиква хипогликемия, като едновременно се стига до едно сигнификантно понижаване на общия белък, албумините, както и а2 и γ - глобулините.

При мишките третирането с нимезуид резултира с увеличаване на общия антиоксидантен капацитет на плазмата, а при комбинирането му с липополизахарид се постига нормализиране на концентрациите на редуцирания глутадион и регулиране на хипогликемията. Заедно с това, в същото време се постига и увеличаване на малондиалдехида и индекса на оксидативния стрес.

При въздействието с LPS плъхове, въвеждането на нестероидния противовъзпалителен продукт индометацин води до възстановяване на плазмените концентрации на PGF2 и IL1- β . Той обаче не е в състояние да повлиява ефективно отклоненията в броя на левкоцитите, стойностите на отделните компоненти на левограмата, както червената кръвна картина. Не се постига и нормализиране на еритроцитните индекси и киселинно-алкалното равновесие.

Особено интересни са получените от доц. Андонова резултати от проучванията върху факторите на естествената защита при прасетата и възможното им коригиране. Така, установено

е, че при този вид животни липополизахаридът на *E. coli*, серотип O111:B4, въведен венозно, води до ендотоксемия, която протича бързо с кратковременна левкопения, последвана от левкоцитоза, ядрено изместване вляво и редуциране броя на еозинофилите, моноцитите и лимфоцитите. Метаболитните катаклизми в този случай включват още една преходна хипергликемия, заменяща се от хипогликемия, промени в чернодробните трансаминази, а също и ранно увеличаване серумните концентрации на цинка и желязото. В случаите когато LPS при прасетата е въведен интраперitoneално се стига само до краткотрайно понижаване броя на левкоцитите с ядрено изместване наляво. В същото време хуморалните фактори на естествена защита като например комплементът реагира с редуциране на хемолитичната си активност. Провокираните в този случай нарушения в алкално-киселинното равновесие резултират в една декомпенсирана метаболитна ацидоза.

Третирането на въздействираните с LPS прасета с целенасочено проучвания препарат индометацин води до устойчива корекция в броя на левкоцитите, без обаче да се повлиява пръчкоядрената неутрофилия и сегментоядрената неутропения. Този еселективен COX инхибитор все пак не може да отстрани нарушенията в киселинно-алкалното равновесие при този вид животни. Предварителното прилагане при тези прасета на рецепторния антагонист циметидин оказва протективен ефект, като се установява, че той е свързан с неговите терморегулаторни свойства. Става ясно още, че циметидинът в такива случаи оказва благоприятно въздействие върху клетъчните и хуморалните компоненти на естествената защита.

Резултатите от проучванията при кучета показват, че този вид животни реагират с остра възплапителна реакция на артифициалната кожна инфекция с бактерийния вид *P. aeruginosa*. Последната се проявява с фебрилитет, дву- или трикратно увеличаване на нуклеарния фактор капа-бета, бързо нарастване на серумните концентрации на азотния оксид, както и на съотношението неутрофили / лимфоцити. При тази инфекция се наблюдава увеличаване абсолютния брой на пръчкоядрените и сегментоядрените неутрофили, но се понижава фагоцитната активност. При проведените проучвания се установява още нарастване на хидроген пероксидната продукция на неутрофилите и на серумните концентрации на малондиалдехида. Острофазовият отговор на кучетата протича с нарастване стойностите на фибриногена, а също и повишаване на свободната сиалка киселина и нарастване съотношението албумини / глобулини. Повишава се и активността на чернодробните трансаминази. Като ранен и в същото време достоверен индикативен сигнал за тази инфекция се оказва рязкото покачване на стойностите на прокалцинонина.

Фитопродуктът Feverfew, приложен съвсем в началото на инфектния процес при повлиява положително кучетата с експериментална псевдомонасна инфекция, като блокира ефективно нуклеалния фактора кала-бета и проявява антиоксидантна активност. В същото време той не променя активността на трансаминазите и може да се комбинира с антибиотично средство.

Всички тези резултати могат да се приемат като достатъчно полезни при оценката на състояния, свързани с действието на патогенни за животните Грам-негативни бактерии и тяхното ефективно повлияване със средства, представляващи алтернатива и/или допълнение на специфичната етиотропна терапия. В този смисъл посочените 12 оригинални и 3 потвърдителни приноси от разработката са коректни и следва да се оценяват по достойнство. Посочените препоръки за практиката също следва да се интерпретират в такъв контекст.

Наред с направените изводи, приноси и препоръки доц. Мария Андонова прилага към дисертационния труд и в автореферата към него и списък с публикациите, свързани с разработвания проблем. От него става видно, че тя е предоставила на научната общност общо 15 публикации, касаещи темата, като 8 от тях са в научни издания с импакт фактор или импакт ранг. Стойностите на тези два индикатора са съответно 4,91 и 0,558.

В заключение намирам, че предложението ми за оценяване дисертационен труд на тема „**Възможности за коригиране на нарушенията в естествените защитни механизми при животни с различна чувствителност към антитела на Грам-негативни бактерии**“ с автор доц. д-р Мария Андонова е солидна разработка с достатъчно висока научна стойност от гледна точка на актуалност, методология, анализ и синтез на получените резултати и съвременния и модерен ракурс, ползван при тяхното обсъждане. Считам, че дисертацията напълно отговаря на високите критерии за придобиване на научната степен „Доктор на науките“ и в тази връзка предлагам и на останалите членове на научното жури да се присъединят към решението ми за присъждане на доц. д-р Мария Йорданова Андонова на тази научна степен по научната специалност „Патология на животните“, професионално направление 6.4. „Ветеринарна медицина“, в област на висшето образование 6. „Аграрни науки и ветеринарна медицина“.

17.11.2017

гр. Стара Загора

Автор на становището:

проф. дн Михни Люцканов