



СТАНОВИЩЕ

от проф. д-р Анелия Миланова Кондева, д-р
Катедра по фармакология, физиология на животните и физиологична химия
на Ветеринарномедицински факултет при Тракийски университет, Стара Загора

Относно: Дисертация за придобиване на образователната и научна степен „Доктор“ от **Ивелина Павлова Христова** на тема: „Взаимодействие между антибиотици и пробиотици и влиянието им върху антимицробни пептиди в храносмилателната система на птици“ по научна специалност 03.01.24 „Фармакология (вкл. фармакокинетика и химиотерапия)“, професионално направление 6.4. Ветеринарна медицина, област на Висше образование 6. Аграрни науки.

Материали по процедурата

Материали за присъждане на ОНС „Доктор“ са представени съгласно изискванията на ЗРАС в РБългария, Правилник за неговото приложение и ПРАСТрУ и са спазени всички срокове.

Актуалност на темата на дисертацията

Принципите за употреба на антибиотици при селскостопанските животни, отглеждани в големи групи, бяха преразгледани и изборът за приложението им беше подчинен на фармакокинетичния-фармакодинамичен (PK-PD) подход. Това изисква дозите им да бъдат определени с помощта на PK-PD принципите. Същевременно търсенето на възможности за подобряване на имунния статус на птиците доведе до масово приложение на пре- и пробиотици без да се познават в дълбочина механизмите им на действие. В условията на съвременното птицевъдство получаването на максимален прираст за кратко време често излага птиците на стрес и провокира проявата на заболявания, което налага едновременната употреба на антибиотици и пробиотици. Това изисква оценка на ефекта на комбинацията пробиотици-антибиотици върху функцията на стомашно-чревния тракт. Необходими са познания относно бионаличността на антибиотиците, приложени в комбинация, с цел оптимизиране на дозите им, както и относно експресията и функцията на транспортни протеини, участващи в резорбцията на хранителни вещества и антибиотици. Не по-малко значим е въпросът за влиянието на антибиотиците и пробиотиците върху имунитета на птиците и възможностите за стимулиране на вродения имунитет. Недостатъчното познаване на тези проблеми прави проучването актуално и със съществено практическо значение.

Характеристика на структурата на дисертационния труд

Дисертационният труд е написан на 154 стандартни страници, от които литературата е на 39 стр., а на останалите 115 стр. той е структуриран както следва: увод и литературен обзор – 48 стр.; цел и задачи, и материал и методи – 20 стр.; резултати – 21 стр. и обсъждане с изводи и приноси – 26 стр. Цитирани са 299 източника, от които 298 са на латиница. Те съответстват на разглежданата тематика. Почти 40% от тях са публикувани след 2008 г.

Литературен обзор

Литературният обзор излага съвременното състояние на проблема. Систематично са изложени проблемите на антибиотикотерапията в птицевъдството и възможностите за приложение на PK-PD подхода за оптимизиране на дозите. Разгледани са ефектите от приложението на пробиотици и позитивните им ефекти за повишаване на прираста и

поддържане здравето на птиците. Разгледано е значението на транспортни протеини като РерТ1, имащи отношение към усвояването на пептидите и участващи в транспорта на пептидомиметични лекарства. Значението на антимикробния пептид LEAP-2 за вродения имунен отговор е представен в съответствие със съвременните проучвания. Обобщени са съществуващите знания и е отличена липсата на данни относно ефектите на пробиотиците и антибиотиците, както върху фармакокинетиката на антибактериалните вещества, така и върху подбраните протеини РерТ1 и LEAP-2.

Цел и задачи

Проблемите, отразени в литературния обзор логически водят до формулирането на целта на проучването – ефектът на три пробиотични щама *Lactobacillus brevis*, *L. plantarum* и *L. bulgaricus* върху фармакокинетиката на енрофлоксацин и доксициклин, експресията на РерТ1 и LEAP-2 иРНК в стомашно-чревния тракт на птици. Поставени са пет логически свързани задачи, които позволяват изпълнението на целта на проучването.

Материали и методи

В дисертацията са използвани редица съвременни методи, които позволяват изпълнението на задачите и са стабилно основа за получаване на достоверни резултати. Чрез овладяването на разнообразието от методи е постигната една от основните цели на докторантурата. Освен аналитичните методи като HPLC за определяне на антибиотичните концентрации, qRT-PCR за молекулярно-биологичните проучвания са използвани и микробиологични методики. Допълнително са използвани методи за определяне на зоотехнически показатели като прираст и FCR. Статистическите методи са подходящо избрани. Всички методи са описани подробно, което позволява възпроизвеждането им. Спазени са етичните принципи за работа с животни в експерименталния дизайн.

Резултати

Резултатите са представени ясно и точно като са използвани 19 таблици и 14 фигури. Избрана е последователност на представяне на резултатите, която позволява постепенно натрупване данни с цел дискутирането им и обобщаването им в тяхната пълна взаимовръзка. Липсват значими промени във фармакокинетиката на енрофлоксацин и доксициклин при комбинирането им с пробиотици, което не изисква корекция на дозите. Освен това експресията на РерТ1 иРНК е представена във връзка с прираста и FCR. Спазвайки дефинираната последователност от началото на дисертацията накрая са представени резултатите за LEAP-2 иРНК.

Обсъждане

Дискусията отличава възможностите на кандидата да обсъди в дълбочина получените резултати и да ги представи в добър научен стил, и в същото време с увлекателно. Собствените резултати са съпоставени и обсъдени умело с публикуваната по въпроса литература. Комбинацията енрофлоксацин-пробиотици води до по-рано достигане на значимо по-ниски концентрации на антибактериалното вещество, различия които изчезват в хода на третирането, което обуславя липсата на необходимост от промени в дозовия режим. *In vitro* взаимодействията между *L. brevis*, *L. plantarum* и *L. bulgaricus* и флуорохинолоните енрофлоксацин и цiproфлоксацин също подкрепят този извод, поради липса на метаболизъм на енрофлоксацин до цiproфлосацин и на значимо намаляване на свободните концентрации на антибактериалните вещества. *L. plantarum* заслужава допълнително проучване за наличието на ефлукс помпи за хинолони, поради повишените свободни концентрации в хода на инкубирането. Съществен интерес представлява ефектът на енрофлоксацина върху РерТ1 иРНК. Повишената експресия на

този транспортен протеин за пептиди се свързва с най-ниската стойност на FCR в тази група пилета, съпътствана от най-висок прираст. Енрофлоксацинът не оказва ефект върху вродения имунитет по механизъм, включващ промени в експресията на LEAP-2 иРНК.

В комбинацията доксициклин – *L. brevis*, *L. plantarum* и *L. bulgaricus* не се установяват значими ефекти върху фармакокинетиката на антибиотика, което не изисква промяна в режима на дозиране. С *in vitro* експеримента се установява, че свободните концентрации на доксициклина намаляват статистически значимо при инкубиране с *L. brevis*, *L. plantarum* и *L. bulgaricus* и не предполагат наличието на ефлукс на антибиотика. Ефектът на доксициклина и на пробиотиците върху РерТ1 иРНК е подобен на описания за енрофлоксацин, но по-слабо проявен. Заслужава внимание позитивният ефект на доксициклина върху експресията на LEAP-2 иРНК. Намирането на антибиотици, които повишават експресията на LEAP-2 иРНК като част от вродения имунитет могат да имат позитивен ефект в терапията на заболявания. В обсъждането най-ясно проличава добре изпълнените задачи и категоричността на резултатите, което естествено води до задълбочена дискусия и формиране на точни и категорични **изводи**. След направено обобщение са формулирани девет извода, които са адекватен завършек на труда. Представени са и научно-приложни и приложни **приноси**, които отразяват достоверно достиженията на дисертационния труд.

Наукометрични показатели

Във връзка с дисертацията до момента са публикувани 3 статии на английски език, в които дисертантът е водещ автор. Те са в списания с импакт фактор (2.378) и импакт ранг (0.151). Едната статия е цитирана в списание с импакт фактор. Четвъртата статия е публикувана в българско списание на български език. Има участия в международни научни форуми в чужбина като 13-th International Congress of the European Association for Veterinary Pharmacology and Toxicology, 2015, Nantes, France с доклад и постери, както и в научни прояви у нас. Участвала е в колектива на един научен проект. Структурата и съдържанието на автореферата отговарят на изискванията, съответстват на дисертацията и той завършва с резюме на английски език.

Заклучение

Представената дисертация представлява завършен научен труд и докторантът чрез работата върху него е придобил необходимите умения. Проблемът е актуален, получените резултати са достатъчни като обем, представени с правилна структура и представляват солидна основа за формулирането на точни изводи и приноси с научно-приложен характер. Всички представени материали във връзка с дисертацията за присъждане на образователната и научна степен „Доктор“ отговарят на изискванията на ЗРАС в РБългария, Правилник за неговото приложение и ПРАС при Тракийски университет.

Гореизложеното ми дава основание убедено да гласувам положително и да препоръчам на уважаемото жури да присъди образователната и научна степен „Доктор“ на Ивелина Павлова Христова по научна специалност 03.01.24 „Фармакология (вкл. фармакокинетика и химиотерапия)“, професионално направление 6.4. Ветеринарна медицина, област на Висше образование 6. Аграрни науки.

27.03.2016 г.
гр. Стара Загора

Подпис: 
(проф. А. Миланова, двмн)