



СТАНОВИЩЕ

от проф. дбн Искра Витанова Иванова, Софийски университет „Св.
Климент Охридски”, Биологически факултет

**На дисертационен труд на тема: „Взаимодействие между пробиотици и
влиянieto им върху антимикробни пептиди в храносмилателната
система на птици“ с Научен ръководител: проф. д-мн Анелия Миланова
Кондева**

Представен за присъждане "доктор" на Ивелина Павлова Христова в областта на висше образование 6.0. Аграрни науки и ветеринарна медицина, професионално направление 6.4. Ветеринарна медицина, научна специалност Фармакология (вкл. Фармакокинетика и фармакотерапия).

1. Актуалност и значимост на дисертационната тема

Масовото и не добре проучено приложение на антибиотиците в животновъдството доведе до преразглеждане на принципите за тяхната употреба. Развитието на принципите на фармакокинетичния-фармакодинамичния подход при избора на антибиотиците и оптимизирането на дозовите режими, минималния риск от индуциране на резистентност при приложението им са изключително важни в животновъдството. Това налага търсенето на алтернативи за повишаване на прираста, имунния статус на животните и икономическата ефективност в промишления сектор, а също и стремеж към разумна употреба и прецизиране на дозовите режими при третиране с антибиотици.

Пробиотиците, като добавка към фуража, се използват все по-широко като алтернативи на нутритивните антибиотици, за да повишат устойчивостта към чревни заболявания и да намалят смъртността в птицефермите.

2. Оценка на структурата на дисертационния труд

Дисертационният труд е конструиран в традиционна форма със съответните раздели. Написан е на 154 стандартни компютърни страници, които включват 115 страници текст и 39 страници литература. Литературният обзор е изготвен целенасочено и конкретно и включва всички аспекти на изследването. В него са отразени 297 публикации (на латиница), кореспондиращи с всяка една от поставените задачи. Над 39% от цитираните литературни източници са публикувани след 2008 г. Обзорът представя състоянието на проблема и доказва необходимостта от разработването на дисертационната теза.

2.1. Литературен обзор

Литературният обзор е в 4 части, където последователно се разглеждат фармакокинетичните характеристики и фармакокинетичното и фармакодинамичното моделиране на два антибиотика използвани във ветеринарната медицина: енрофлоксацин и доксициклин. Особен интерес представляват данните относно използването на пробиотици, алтернативи при подобряване на прираста, здравния статус, икономическата ефективност в птицевъдството, без да увеличават необходимостта от прилагане на антибиотици и огромния риск от индуциране на резистентност. Последната глава от обзора фокусира вниманието върху значението на активният транспорт за кинетиката на лекарствените вещества. Авторката се фокусира върху пептидните транспортни протеини тип PerT1 и чернодробния антимикробен пептид LEAP-2.

2.2. Цел и задачи

За реализирането на целта на настоящия дисертационен труд, а именно да се проучат взаимодействията на три пробиотични щама от видовете *L. bulgaricus*, *L. brevis* и *L. plantarum*, приложени в комбинация с антибиотиците

енрофлоксацин и доксициклин и влиянието им върху антимикробни пептиди и транспортни протеини в храносмилателната система на птици са формулирани 5 конкретни, взаимно обвързани и логически следващи задачи.

2.3. Материали и методи

Разделът "Материали и методи" демонстрира внушителен набор от методи, съобразени с конкретните изисквания на експеримента. Те са както рутинни, така и съвременни, микробиологични, биохимични, молекулярно-биологични и др. Описани са достатъчно подробно, за да могат да бъдат възпроизведени. Освен това са разбираеми и дават възможност за коректно провеждане на експериментите и получаване на достоверни резултати. Много силно впечатление прави включването на HPLC, RT-PCR с видово специфични праймери, фармакокинетичен и фармакокинетичен-фармакодинамичен анализ, изчислена е и конверсията на фуража и комплексен статистически анализ, антибактериална активност и др. Искам да подчертая, че настоящата разработка е достоверна и прецизна.

2.4. Резултати и обсъждане

В раздел „Резултати и дискусия“ е включен експериментален материал, който е представен на 45 стр. и демонстрира широко-мащабна изследователска дейност. Важно е да се отбележи, че разработката се характеризира с логическа последователност, отделните етапи са разработени обстойно и всеки от тях е база за следващия. Трябва да се подчертае още, че дисертацията е написана в много добър научен стил и коректно отразява получените резултати. Доказателственият материал е оформен професионално в 19 таблици и 14 фигури. Всички тези фигури и таблици още веднъж доказват мащабния характер на разработката.

Смятам, че получените резултати са убедителни и тяхната достоверност не подлежи на съмнение. Следвайки логичната последователност на поставените задачи авторката доказва, че въвеждането на пробиотиците *L. bulgaricus*, *L. brevis* и *L. plantarum* води до значимо по-рано достигане на по-ниски серумни нива на енрофлоксацин, различия, които не се установяват при продължително третиране, не променя статистически значимо метаболизма на енрофлоксацин до ципрофлоксацин. Добавянето на пробиотици не променя РК-PD индексите за чувствителни патогенни микроорганизми, което показва, че не е необходима промяна в дозовия режим, когато пробиотиците се въвеждат едновременно с енрофлоксацин. Едновременното въвеждане на енрофлоксацин и пробиотиците повишава антибактериалните концентрации в черния дроб, което е предпоставка за успешно третиране на гастроинтестинални инфекции при пилета бройлери, засягащи и черния дроб. Пробиотичните щамове *L. brevis*, *L. plantarum* и *L. bulgaricus* показват наличие на *in vitro* взаимодействия с антибиотиците.

Комбинираното приемане на пробиотици и енрофлоксацин води до повишена експресия на PcpT1 в тънките черва и черния дроб, което е свързано с най-ниски стойности на конверсия на фураж и най-добър прираст на пилетата. Приложението на енрофлоксацин води до по-добри показатели на прираста в сравнение с нетретирани или получавали единствено пробиотик пилета.

Другият изследван антибиотик доксициклин в комбинация с пробиотици, не води до значителни промени в експресията на PcpT1 иРНК в черен дроб и йеюnum, но повишава значително експресията му в дуоденума, свързано отново с най-ниски стойности на FCR в тази група животни. Енрофлоксацинът, приложен с или без пробиотици не води до значителни промени в относителните нива на експресия на LEAP-2 иРНК и в трите

изследвани тъкани. Той няма ефект върху вродения имунитет по механизъм, включващ експресията на LEAP-2 и РНК. Проучваните комбинации от енрофлоксацин и доксициклин и пробиотици не водят до нежелани фармакокинетични взаимодействия. Те имат позитивни фармакодинамични ефекти. Комбинацията с енрофлоксацин има повишаващ прираста ефект, а тази с доксициклин стимулиращ ефект върху фактори от вродения имунитет. Към достоинства на дисертацията трябва да се добави и уменията на Ивелина Христова да отразява извършеното много ясно и коректно, да обсъжда получените резултати на фона на постигнатото от други автори. Дискусията е направена убедително въз основа на голям брой съвременни данни. Трябва да се подчертае стремежа на автора да търси обяснение на данните, да предлага хипотези, да отразява и дискутира и отрицателните резултати, да дава насока за нови изследвания. Това, разбира се, е възможно благодарение на много доброто познаване на проблема и задълбочената научна разработка.

2.5. Изводи и приноси

Изводите са логично следствие от проведените експерименти. Според мен са формулирани в съответствие с постигнатото. Приемам направените приноси, но те трябва да бъдат преработени. Според мен, извършените изследвания дават възможност да се открият сериозни теоретични приноси, както оригинални, така и приложни.

2.6. Препоръки, забележки и въпроси

Към докторантката имам следните въпроси:

1. Какъв е антибактериалният спектър на използваните пробиотични щамове? Дали е възможно антибактериалната активност да влияе на фармакологичната динамика на използваните антибиотици в настоящето изследване?

2. Кой от засегнатите в дисертацията аспекти трябва да има приоритет при следващи научни разработки?
3. Какво е значението на ABC транспортните системи за еукариотите и прокариотите?

2.7. Публикации във връзка с дисертационния труд

Част от резултатите са включени в 4 научни публикации, 2 от тях са в списание с IF (Journal of veterinary pharmacology and therapeutics (IF=1.189). Представени са резултати и на 5 научни форума, от които 3 международни. Ивелина Христова е на първо място в 3 статии. Тези данни ми дават основание да направя извода, че в основната си част, резултатите са дело на докторантката и научната общност е запозната с тях.

2.8. Автореферат

Авторефератът се състои от 52 страници, които подробно отразяват основните акценти на докторантския труд. Накрая е приложено и резюме на автореферата на английски език.

3. Придобита компетентност и съответствие с изискванията на образователната и научна степен „доктор”

В хода на изпълнението на експерименталната работа и оформянето на дисертационния труд докторантката Ивелина Павлова Христова е придобила компетенции и умения, които могат да бъдат групирани по следния начин:

- разширила е теоретичната си компетентност в областта на фармакологията и микробиологията
- придобила е умения за работа с научна литература, анализирайки и обобщавайки научна информация
- обогатила е методичните си умения, особено в частта на прилагането на редица съвременни методи

- придобила е умения самостоятелно да оформя и дискутира резултатите, получени в хода на разработването на дисертацията, както и да прави изводи на базата на тях

4. Заключение

Всичко това ми дава основание да смятам, че докторантката е придобила компетенциите и уменията, които се изискват за придобиване на образователната и научна степен „доктор“, които осигуряват изпълнение на поставените задачи и постигането на целта. Смятам, че обемът на този труд е внушителен, направени са много анализи, получени са ценни резултати, направени са важни изводи, а изследването има научно-приложни приноси. Въз основа на гореизложеното, както и предвид Правилника за приложение на закона за развитие на академичния състав в Република България и този на Тракийския Университет, Стара Загора считам, че настоящият труд отговаря на изискванията за докторска дисертация, оценявам го положително и препоръчвам на научното жури да присъди образователната и научна степен "доктор" на Ивелина Павлова Христова в областта на висше образование 6.0. Аграрни науки и ветеринарна медицина, професионално направление 6.4. Ветеринарна медицина, научна специалност Фармакология (вкл. Фармакокинетика и фармакотерапия).

15.03.2016 г.

Реценцент:



(проф. дбн Искра Иванова)