

СТАНОВИЩЕ

от проф. АТАНАС ДИМИТРОВ КРЪСТЕВ, ДБН

върху дисертационен труд за присъждане на ОНС „ДОКТОР“

Област на висше образование 4. Природни науки, математика и информатика;

Професионално направление 4.3. „Биологически науки“;

Научна специалност: „Физиология на животните и човека“

на тема **“НЕВРОМОДУЛАТОРНИ И ПРОТЕКТИВНИ ЕФЕКТИ НА
ВАЗОАКТИВНИЯ ИНТЕСТИНАЛЕН ПЕПТИД”**

с автор

МАРИЯ ИВАНОВА ЛАЗАРОВА

асистент в ИНСТИТУТ ПО НЕВРОБИОЛОГИЯ, БАН

Научен ръководител: **ПРОФ. Д-Р РЕНИ ЕМИЛ КАЛФИН**

Общо представяне на дисертационния труд и на процедурата

Предложеният ми дисертационен труд съдържа 134 страници, от които въведение – 2, литературен обзор – 35, цел и задачи – 2, методи и материали – 20, собствени резултати – 21, обсъждане – 6, изводи – 1, приноси – 1, приложения (списък на научни трудове и съобщения на автора по дисертационния труд и негови цитирания) – 4, използвани литературни източници – 33. Книгописът на цитирани автори включва 393 заглавия.

Комплектът материали, необходим за провеждане на процедурата, е грижливо подготвен и съдържа всички документи, съгласно правилата за придобиване на ОНС „ДОКТОР“, приети от НС на Института по Невробиология - БАН.

Дисертационният труд е базиран върху изследвания, публикувани в 5 статии и 17 научни съобщения.

Кратки биографични данни

Мария Иванова Лазарова завършва висше образование като магистър през 1998 год. в Биологически факултет на СУ “Св. Климент Охридски” (специалност молекулярна биология). Същата година постъпва като специалист-биолог в Институт по Физиология на БАН. От 1999 год. е научен сътрудник, съответно III, II и I степен, в същия Институт (понастоящем Институт по Невробиология). От 2015 год., като асистент, е зачислена в докторантура под ръководството на проф. Р. Калфин, разработването на която завършва през 1917 год., когато е отчислена с право на защита.

Член е на Българското дружество по физиологични науки и на Българското пептидно дружество.

Владее английски език.

Познаване на научния проблем, разработен в дисертационния труд

Прегледът на литературата, подготвен от докторанта, е задълбочен и компетентно представен. В него целенасочено творчески са разгледани резултати от проучвания през последните 30 години, свързани с обекта на изследване в дисертационния труд – вазоинтестиналният пептид (VIP). Подробно са разгледани прекурсор, синтез, локализация в различни тъкани, рецептори с които взаимодейства, вътреклетъчните реакции, които връзката му с рецепторите провокира, взаимодействия с други пептидни хормони, физиологични ефекти. Предвид обекта на *in vitro* изследване задълбочено е обсъдена вегетативна инервация на вас деференс, реактивността на ГМ при електрополева стимулация, както и известни невротрансмитерни и невромодулаторни ефекти на VIP.

Предвид използваните експериментални модели в обзора е сбита форма, но достатъчно информативно е обсъдена невроналната организация на мозъчна кора и на хипокамп. Разгледано е модулаторното влияние на пептида върху функционирането на основни класически невротрансмитерни системи.

Обсъден е протективният капацитет на VIP, резултат от имуномодулаторите му качества и от способността му да повишава устойчивостта на клетките към оксидативен стрес. В това си качество невропептидът е използван в 6-OHDA експериментален модел на Паркинсонова болест при плъхове, където предотвратява невроналната загуба и демиелинизация и намалява моторните нарушения на плъховете.

Обзорът е много информативен. Онагледен е с подходящо подбрани схеми за участие на VIP в обсъжданите процеси.

Считам, че така представен, той може да се разглежда като атестат за добра теоретична подготовка на докторанта по въпросите, обсъждани в дисертационния труд.

След представяне на известното в литературата и негов анализ асистент Мария Лазарова формулира някои нерешени проблеми, които определят основната насока на нейните научни търсения, представени като цел на дисертационното проучване и формулира няколко основни задачи, произтичащи от целта.

Методи на изследване

Експерименти са извършени с 40 морски свинчета (Charles River), 150 плъхове (Wistar) и 30 мишки (BALB/c) при съблюдаване на "European Convention for the Protection of Vertebrate Animals Used for Experimental and Other Scientific Purposes" и правилата на Етичната Комисия на ИН при БАН за работа с лабораторни животни.

В хода на изследването ас. Лазарова използва *in vitro* методи за регистриране на механична активност и причинена от електрическа полева стимулация реактивност на ГМ от вас деференс на морско свинче и плъх.

Прави впечатление разнообразието от изследователски методи, приложени за проследяване на невромодулаторните, имуномодулаторни и протективни ефекти на VIP в *in vivo* изследвания – оперативни, аналитични, лабораторни, биохимични, ...–

всички високоинформативни и адекватно подбрани на целите на дисертационния труд. За изследване ролята на VIP в патологични условия са използвани два експериментални модела с лабораторни животни – на Паркинсонова болест и на зимозан - индуцирано остро възпаление.

Според мене статистическите методи за обработка на експерименталните данни са подходящо подбрани.

Характеристика и оценка на дисертационния труд и приносите

Собствените изследвания са структурирани в няколко части, формулирани в най-общ план, съобразно поставените за решаване задачи. Описанието в повечето случаи е направено коректно, фигурите (13 бр.) и таблиците (6 бр.) са информативни и дават представа за получените резултати.

Чрез разнообразието от експерименти, удостоверяващи участие на VIP в различни процеси авторката изпълнява една от основните задачи на дисертационния труд – допълване и разширяване на известни от литературата данни относно периферни и централни невромодулаторни ефекти на пептида.

В тази връзка *in vitro* са наблюдавани ефекти, които предполагат VIP-индуцирано понижаване на освобождаването на невротрансмитери след електростимулация от адренергични неврони от вас деференс на морско свинче и плъх. Регистрирани са различия при препаратите от двата вида животни, което авторът отдава на съществуващи според литературата видови разлики в тяхната инервация. Резултати от тази група експерименти с АТФ- и НА-предизвикани контракции показват и наличие на директен миогенен ефект на VIP.

Невромодулаторните ефекти на пептида в мозъчна кора и хипокамп на плъх е изследван чрез *in vivo* експерименти с помощта на микродиализна техника. Влиянието е проучено чрез проследяване промени в екстрацелуларните нива на АСh и DA в перфузат, получен след локално прилагане на VIP през диализната мембрана.

На базата на литературни данни дисертантката счита, че установеният от нея стимулиращ освобождаване на АСh ефект в мозъчна кора е директен, а в хипокамп – опосреден от интерневрони. Предвид разнопосочното влияние върху освобождаване на DA, регистрирано в двете изследвани структури авторът се задоволява с разумното предположение, че вероятно става въпрос за два различни механизма на действие на VIP в мозъчна кора и хипокамп върху този процес.

Изясняване на протективния ефект на VIP, заложено като основна задача на дисертационния труд, е проучено *in vivo* върху два експериментални модела с опитни животни – на Паркинсонова болест и на зимозан-предизвикано остро възпаление.

Въз основа на получени с 6-OHDA-индуциран модел на Паркинсонова болест оригинални резултати авторът стига до извода, че протективното действие е следствие от способност на VIP да намали нивото на оксидативен стрес в клетките на изследваните мозъчни структури, основно чрез редуциране на процеса липидна пероксидация и не влияе върху активността на глутатион редуктазата.

За оценка на протективния капацитет на VIP беше проследен и неговия ефект върху някои от основните процеси, протичащи в хода на остро системно възпаление, индуцирано от зимозан. Влиянието на VIP върху процесите, съпътстващи състоянието остро възпаление са проучени в няколко аспекта: преживяемост на опитните животни, продукцията на цитокини/хемокини и предвид развитието на полиорганна недостатъчност – промени в структура и някои функции на черен дроб и бъбреци.

От представените данни става ясно, че прилагането на VIP повишава броя преживели животни при зимозан-индуцираното остро възпаление, потиска продукцията на провъзпалителни медиатори, ограничава чернодробните увреждания и развитието на хипогликемия, понижава продукцията на NO от активираните макрофаги и оказва превантивен ефект по отношение на органното нарастване.

Получените резултати и техния анализ позволяват на дисертантката заключението, че VIP притежава силен противовъзпалителен капацитет и е ефективен в условия на нарушен имунен толеранс в организма.

Подготвените и извършени in vivo и in vitro експерименти, получените резултати и техния анализ дават основание на ас. Лазарова да формулира 8 обосновани извода и 4 приноса, които отразяват значимостта на извършената научноизследователска работа и демонстрират новоустановени факти за участие на VIP в проучваните процеси.

Преценка на публикационна активност и на личния принос на докторанта

Асистент Мария Лазарова е съавтор на 5 публикации, тематично свързани с настоящия дисертационен труд. Две от тях са в списания с ИФ (**общ ИФ = 2.543**). В момента на стартиране на процедурата има открити 8 цитации на една от нейните публикации, което е проява на наинтерес към научната проблематика.

Допълнително асистент Лазарова има участия в 17 научни форума (конгреси, конференции и симпозиуми, част от които международни) със съобщения по темата на дисертационния труд.

Наукометричните й показатели отговарят и в някои случаи надхвърлят предоставените ми в качеството на рецензент Критерии на Института по Невробиология за придобиване на ОНС „Доктор“.

Без да познавам лично дисертантката, считам че значителна степен от научната разработка, нейното изпълнение и анализ, са лично дело, разбира се при сериозните помощ и напътствия на научния й ръководител.

Автореферат

Оформен е според изискванията. Включва основните резултати от проучването и анализа и дава представа за качеството на дисертационния труд. Онагледен е подходящо.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Дисертационният труд отразява интересен научен проблем. Изграден е върху обширен експериментален материал и съдържа интересни резултати, част от които могат да се разглеждат като оригинален принос в науката.

Добре разработеният обзор, разнообразните, правилно подбрани, съобразно цел и задачи, методи за изследване, начинът на представяне на резултатите, формулирането на изводи и приноси ме убедиха, че асистент Лазарова е учен, притежаващ широки теоретични познания и експериментални умения.


Според мене дисертационният труд отговаря на всички изисквания на ЗРАСБ, Правилника за прилагането му, както и на специфичните изисквания на ИНБ при БАН.

Давам положителна оценка на дисертационният труд **„Невромодулаторни и протективни ефекти на вазоактивния интестинален пептид“**, предвид оригиналността на получените резултати, научните приноси, както и качествата на публикаците, на база на които той е конструиран.

Всичко отбелязано по-горе е основание да гласувам положително за присъждане на ОНС „ДОКТОР“ на асистент МАРИЯ ИВАНОВА ЛАЗАРОВА.

18. 08. 2018 год.
Пловдив

Изготвил становището:



проф. А. Кръстев