

СТАНОВИЩЕ

от доц. д-р Милена Славчева Михайлова

Направление „Сензорна Невробиология“, Институт по невробиология - БАН

Член на научно жури, избрано съгласно решение на НС към ИНБ-БАН / протокол № 36/18.06.2025 г.и Заповед на Директора на ИНБ-БАН № 45/11.08.2025 г.

Относно дисертационния труд на **Десислава Здравкова Крушовлиева** на тема:
„Проучване влиянието на мелатониновия дефицит върху някои механизми на стареене
при експериментален модел на пинеалектомия“

за получаване на научната и образователна степен „Доктор“ по Професионално
направление: 4.3. Биологически науки; Докторска програма: „Физиология на животните
и човека“

Научен ръководител: проф. д-р Яна Димитрова Чекаларова, Институт по
невробиология, БАН

Докторант Десислава Здравкова Крушовлиева е представила всички необходими
материали (дисертация, автореферат, публикации, автобиография).

Дисертационната работа, представена от докторанта, съдържа 153 стандартни
страници и следва общоприет модел като включва следните раздели: Увод (2 стр.),
Литературен обзор (38 стр.), Цели и задачи (1 стр.), Материали и методи (16 стр.),
Резултати (36 стр.), Обсъждане (11 стр.), Изводи (1 стр.), Приноси и Библиография,
която включва 335 литературни източника. Дисертационният труд е онагледен с общо
42 фигури и 2 таблици, от които 10 фигури – в Литературния обзор, 12 фигури – в
Материали и методи и 20 фигури и 2 таблици – в Резултати.

Избраната тема на дисертацията е актуална и значима, като се има предвид
застаряването на населението в световен мащаб и свързаните с този процес
неблагоприятни промени на организма. Както се твърди в дисертацията, задълбоченото
проучване на влиянието на мелатониновия дефицит може да спомогне за изясняване на
основните механизми на възрастовите промени в структурата и функцията на мозъка,
както и на процесите, които потенциално могат да забавят тези дегенеративни

изменения. Нещо повече, получените резултати може да се използват при разработване на нови терапевтични подходи за забавяне на процесите на стареене.

Литературният обзор е доста обширен и последователно разглежда процесите на синтез и регулация на мелатонина; мелатониновите рецептори; влиянието на мелатонина върху циркадните ритми; връзката между мелатонина и митохондриалната дисфункция, а също и оксидативния стрес и възпалението, както и ролята му за сърдечно-съдовата система, при невродегенеративни заболявания и неговите ефекти върху различни тъкани. В отделна точка е посочена ролята на мелатонина в механизмите на стареене като са включени теориите за връзката между мелатонина и стареенето, възрастовите промени в секрецията на мелатонин и влиянието му върху стареенето на черния дроб. Специално внимание е отделено на молекулярните механизми, свързани със стареенето и мелатониновия дефицит.

Целите на дисертационния труд включват изследване на ролята на мелатониновия дефицит в процеса на стареене и разкриване на предполагаемите механизми, чрез които този хормон модулира скоростта и характера на възрастовите промени. Поставените задачи са адекватни и съобразени с отделните стъпки за постигане на целите.

В дисертационния труд е използван експериментален модел на пинеалектомия. Доколкото мога да преценя приложените методи са подходящи, внимателно подбрани, подробно описани и позволяват достигане на целите, които са поставени в дисертацията, като дават адекватен отговор на поставените въпроси.

Резултатите са подробно представени и добре онагледени с фигури и таблици. Последователно са разгледани получените данни за влиянието на мелатониновия дефицит върху продължителността на живота на плъхове; двигателната активност и нейния циркаден ритъм; върху поведението на тревожност, а също и върху сигналните пътища, свързани с тревожното поведение; върху оксидативния стрес; върху когнитивните функции и паметта и сигналните пътища, свързани с когнитивните функции и паметта. Всички ефекти са проследени при плъхове в различни възрастови периоди: 3 месеца, 14 месеца и 18 месеца.

В обсъждането на дисертацията е направено сравнение с предишни изследвания относно ефектите на мелатониновия дефицит върху процесите на стареене, като са обяснени източниците на различия в резултатите, а също така са посочени

допълнителни насоки за изследвания. В края на обсъждането са направени заключения въз основа на получените резултати в дисертационния труд относно ролята на мелатонина и епифизната жлеза в регулацията на физиологичните процеси, свързани със стареенето. Подчертано е, че дефицитът на мелатонин, предизвикан чрез пинеалектомия, води до значителни поведенчески и физиологични промени в двигателната активност, повишена тревожност и когнитивни дефицити при младите и старите плъхове. Плъховете на средна възраст обаче показват относителна устойчивост към мелатониновия дефицит. В дисертацията е предположено, че това се дължи на компенсаторни механизми, като екстрапинеалния синтез на мелатонин. Посочени са също така ограничения, свързани с изследването, като са предложени допълнителни експерименти, които да подпомогнат преодоляване на тези ограничения.

В дисертационния труд са обобщени пет извода във връзка с получените резултати. Очертани са пет оригинални и четири потвърждаващи приноса.

Авторефератът отговаря на формалните изисквания и представя синтезирано изследваната проблематика и постигнатите резултати и приноси.

Данните от проучването са публикувани в 2 статии, в една от които Крушовлиева е първи автор, и са представени на пет научни форума.

Имам няколко препоръки: - добре е да се добави професионалното направление и докторската програма на заглавната страница на автореферата; -добре е да се добавят източниците на използваните в литературния обзор фигури; - излишно е да се включва списък с проекти в точка X. Списък на научни съобщения, цитирания и участия в научни форуми, свързани с дисертационния труд.

Дисертационният труд отговаря на всички законови изисквания и съдържа необходимите научни постижения с приносен характер, поради което препоръчвам да се присъди на Десислава Здравкова Крушовлиева образователната и научна степен „доктор”.

09.09.2025 г.

София

(доц. д-р Милена Михайлова)

STATEMENT OF OPINION

by Assoc. Prof. Milena Slavcheva Mihaylova, Department of Sensory Neurobiology, Institute of Neurobiology, Bulgarian Academy of Sciences

Regarding: a doctoral thesis of Desislava Zdravkova Krushovlieva entitled:
“Studying the effect of melatonin deficiency on certain aging mechanisms in an experimental model of pinealectomy”

for awarding the educational and scientific degree of "Doctor" in the professional field 4.3.
Biological Sciences, Doctoral programme "Physiology of animals and human"

Scientific supervisor: Prof. Jana Dimitrova Tchekalarova, Institute of Neurobiology,
Bulgarian Academy of Sciences

Doctoral student Desislava Zdravkova Krushovlieva has submitted all the necessary materials (dissertation, abstract, publications, autobiography).

The dissertation work presented by the doctoral student contains 153 standard pages and follows a generally accepted model, including the following sections: Introduction (2 pages), Literature review (38 pages), Aims and objectives (1 page), Materials and methods (16 pages), Results (36 pages), Discussion (11 pages), Conclusions (1 page), Contributions and Bibliography, which includes 335 literary sources. The dissertation work is illustrated with a total of 42 figures and 2 tables, of which 10 figures – in the Literature review, 12 figures – in Materials and methods and 20 figures and 2 tables – in Results.

The chosen topic of the dissertation is relevant and significant, considering the aging of the global population and the unfavorable changes in the body associated with this process. As argued in the dissertation, a thorough study of the impact of melatonin deficiency can help to clarify the basic mechanisms of age-related changes in the structure and function of the brain, as well as the processes that can potentially slow down these degenerative changes. Moreover, the results obtained can be used in the development of new therapeutic approaches which aim to slow down the aging process.

The literature review is quite extensive and successively examines the processes of melatonin synthesis and regulation; melatonin receptors; the influence of melatonin on circadian rhythms; the relationship between melatonin and mitochondrial dysfunction, as well as oxidative stress and inflammation, as well as its role in the cardiovascular system, in neurodegenerative diseases and its effects on various tissues. In a separate point the role of melatonin in the mechanisms of aging, including theories about the relationship between melatonin and aging, age-related changes in melatonin secretion and influence on liver aging is being indicated. Special attention is paid to the molecular mechanisms associated with aging and melatonin deficiency.

The aims of the dissertation include studying the role of melatonin deficiency in the aging process and revealing the presumed mechanisms by which this hormone modulates the rate and nature of age-related changes. The tasks are adequate and consistent with the individual steps to achieve the aims.

In the dissertation an experimental model of pinealectomy is being used. As far as I can tell, the methods applied are appropriate, carefully selected, described in detail and allow achieving the aims in the dissertation, providing adequate answers to the questions posed.

The results are presented in detail and well illustrated with figures and tables. The data were obtained on the influence of melatonin deficiency on the lifespan of rats; motor activity and its circadian rhythm; on anxiety behavior, as well as on the signaling pathways associated with anxiety behavior; on oxidative stress; on cognitive functions and memory and the signaling pathways associated with cognitive functions and memory were consistently reviewed. All effects were monitored in rats at different age periods: 3 months, 14 months and 18 months.

In the discussion of the dissertation previous studies on the effects of melatonin deficiency on aging processes are compared, the sources of differences in results are explained, and further research directions are suggested. At the end of the discussion, conclusions are drawn based on the results obtained in the dissertation regarding the role of melatonin and the pineal gland in the regulation of physiological processes related to aging. Melatonin deficiency induced by pinealectomy leads to significant behavioral and physiological changes in motor activity, increased anxiety, and cognitive deficits in young and old rats. However, middle-aged rats show relative resistance to melatonin deficiency. The

thesis suggests that this is due to compensatory mechanisms, such as extrapineal melatonin synthesis.

Limitations associated with the study are also noted, and additional experiments are proposed to help overcome these limitations.

The PhD-thesis summarizes five conclusions related to the results obtained. Five original and four confirming contributions are outlined.

The abstract meets the formal requirements and presents the researched issues and the achieved results and contributions in a synthesized manner.

The data from the study have been published in two articles, in one of which Krushovlieva is the first author, and have been presented at five scientific forums.

I have a few recommendations: - it would be good to add the professional field and doctoral program to the title page of the abstract; - it would be good to add the sources of the figures used in the literature review; - It is unnecessary to include a list of projects in point X. List of scientific communications, citations, and participation in scientific forums related to the dissertation.

The dissertation meets all legal requirements and contains the necessary scientific achievements of a contributing nature, therefore I recommend that Desislava Zdravkova Krushovlieva be awarded the educational and scientific degree of "doctor".

09.09.2025 г.

Sofia

(Assoc. Prof. Dr. Milena Mihaylova)