

РЕЦЕНЗИЯ

На Дисертационен труд за присъждане на образователната и научна степен “ДОКТОР”
в професионално направление 7.1 Медицина, от област на висше образование
7. Здравеопазване и спорт, научна специалност Фармакология

„РОЛЯ НА КИТОРФИНА В ПОВЕДЕНЧЕСКИТЕ И ХИСТОЛОГИЧНИ ИЗМЕНЕНИЯ
ПРЕДИЗВИКАНИ ОТ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЕН МОДЕЛ НА БОЛЕСТТА НА
АЛЦХАЙМЕР“

Представен от Д-Р ХРИСТИНА ЦАНКОВА АНГЕЛОВА
задочен докторант към направление „Поведенческа невробиология”, Институт по
Невробиология-БАН

Научни ръководители:

Доц. Даниела Пехливанова, дм – ИНБ-БАН,
Проф. Елена Джамбазова, дм – МФ-СУ «Св. Климент Охридски»

Рецензент:

Проф. д-р Александър Георгиев Стойнев, дмн – МФ-МУ-София

Рецензирането на материалите, представени в настоящата процедура, се основава на изискванията на Закона за развитие на академичния състав в Република България и на Правилника за неговото приложение, на изискванията и качествените и количествени критерии, определени в нормативните документи на Института по Невробиология-БАН, на Заповед на Директора на ИНБ-БАН № 37/26.04.2023 г за назначаване на научно жури, и на решение от 24.04.2023 г на заседание на Научното жури за възлагане на рецензии и становища.

Д-р Ангелова е представила за процедурата по защитата всички необходими материали, справки и документи. Декларирам, че нямам конфликт на интереси, вкл. съавторство в публикациите на кандидатката по темата на дисертацията.

Д-р Христина Ангелова е родена на 18.02.1977 г. През 2001 г завършва медицина с научнообразователна степен „магистър“ във ВМИ-Плевен. Д-р Ангелова е работила като лекар-хирург в ДКЦ 12 ЕООД и 1-ва МБАЛ-София (2002-2008 г), лекар-хирург в Клиника за лазерна медицина „Леграно“ (2008 г), като асистент в катедра „Анатомия, патоанатомия и съдебна медицина“ на МФ – СУ «Св. Климент Охридски» (2009-2018 г), и като медицински директор във фирма за клинични изпитвания на лекарства „R&D Services“ (2013 г – до настоящем). Има придобита специалност по обща хирургия (2009 г). През 2016 г след спечелен конкурс е зачислена за задочен докторант към направление „Поведенческа невробиология“ на ИНБ-БАН. Изпълнила е успешно образователната и научна докторантска програма. Владее английски език.

Дисертационният труд е написан на 101 стандартни страници, като е структуриран както следва: Съдържание – 2 стр., Списък на съкращенията – 1 стр., Увод - 1 стр., Литературен обзор - 28 стр., Цели и задачи - 1 стр., Материали и методи - 9 стр., Резултати - 19 стр., Обсъждане - 11 стр., Изводи - 1 стр., Приноси - 1 стр., Библиография - 23 стр., и Списъци с научни проекти, публикации, участия в научни прояви и цитирания по темата на дисертацията – 3 стр.

Темата на дисертацията е от областта на експерименталната патофизиология и фармакология. Тя е актуална, основно фундаментална, но също с потенциално приложно значение, като може да има отношение към решаването на някои практически медицински проблеми.

В литературния обзор е разгледана болестта на Алцхаймер – клиничните ѝ форми, структурните мозъчни промени, функционалните ѝ прояви, както и основните рискови фактори (генетични и епигенетични, екологични, и някои съпътстващи заболявания). Представени са установените механизми и хипотезите за патогенезата на болестта на Алцхаймер, обсъден е стрептозотоциновият модел за предизвикване на спорадична болест на Алцхаймер. Дискутирана е ролята на мозъчните невропептиди като вероятни участници в патогенезата на заболяването. Специално внимание е отделено на локализацията и механизма на действие на мозъчния кинорфин, физиологичните му ефекти и промените в мозъчното му ниво при патологични процеси в ЦНС.

За всички раздели на обзора е характерен аналитичният подход и критичният анализ на вече публикуваните изследователски резултати. Д-р Ангелова познава много

добре разглежданите проблеми, показва литературна осведоменост на високо ниво, като прави преглед и обективна оценка на всички значими и актуални постижения. В дисертационния труд са цитирани общо 358 заглавия (5 на кирилица и 353 на латиница), вкл. и на публикации от български автори. Коментирани са главните насоки в проучванията, отбелязани са спорни и нерешени въпроси. Това е позволило на д-р Ангелова да формулира обоснована работна хипотеза относно ролята на пониженото мозъчно ниво на кинорфина в патогенезата на болестта на Алцхаймер и потенциалния му протективен ефект при експериментално моделиране на заболяването.

Поставените цел и задачи се основават на работната хипотеза и по моя преценка са дефинирани ясно и конкретно. Целта е да се проучи ролята на кинорфина в поведенческите и хистологични изменения при стрептозотоцинов експериментален модел на болестта на Алцхаймер у плъхове Wistar. Основните задачи за тази цел включват оценка на въздействието на кинорфина върху изследователското поведение, паметта и болковата чувствителност у здрави плъхове; изследване на тези показатели и отлагането на β -амилоид в хипокамп и мозъчни кръвоносни съдове в ранна фаза на болестта; изследване на динамиката на изследователското поведение, паметта и болковата чувствителност и нивата на карбонилирани протеини в хипокампус и префронтална мозъчна кора, загубата на неврони в CA1 и CA3 полета на хипокампа и отлагането на β -амилоид в хипокамп и мозъчни кръвоносни съдове през късната фаза.

Използван е достатъчен брой опитни животни, отглеждани при необходимите стандартизирани лабораторни условия. Спазени са етичните изисквания към лабораторните животни съгласно международните и националните нормативни документи. Използвани са съвременни методики – стереотаксична техника, експериментално моделиране на заболяването у плъхове, батерия от тестове за изследване на двигателна и изследователска активност, тревожност, болкова чувствителност и памет, както и хистологични и биохимични методи за оценка на мозъчните промени. Дизайнът на експериментите е прецизно направен. Получените експериментални данни са обработени с подходящи статистически тестове. Преценявам методичния подход на кандидатката като отговарящ на съвременното ниво и напълно адекватен за изпълнение на поставените в дисертацията цел и задачи.

Получените резултати са достатъчни по количество за изпълнение на поставените задачи. Представени са прецизно, ясно и подредено, онагледени са с 26 фигури.

Обсъждането е адекватно и компетентно, като се позовава както на класически, така и на съвременни литературни източници. Обсъждането на собствените данни е коректно и обективно, в резултат на което са направени мотивирани заключения. Като оригинални находки с приносен характер преценявам установените ефекти на киоторфина върху когнитивното поведение и паметта, както и невропротективния му ефект при експериментален стрептозотоцинов модел на спорадична болест на Алцхаймер у плъхове. Формулираните изводи и претенции за научни приноси са основателни и се базират на собствените данни, получени от д-р Ангелова при разработване на дисертационния труд, така че ги приемам без възражения.

Резултатите от дисертационния труд са обнародвани в четири научни публикации, във всички от които д-р Ангелова е първи автор. Две от тях са с импакт фактор, като една от тях е цитирана 6 пъти в чужди издания (4 списания и 2 дисертации). Една от другите две статии е цитирана 2 пъти в чужди издания (1 списание и 1 дисертация). По темата на дисертацията са представени 11 научни съобщения, 6 от които на международни (или с международно участие) прояви. Оценката на научната активност на докторантката според национални и ведомствени критерии, определени с нормативни документи показва, че тя надхвърля минималните изисквания.

Авторефератът отразява адекватно съдържанието на дисертационния труд.

Критичните ми бележки и препоръки, които бях отбелязал при апробирането на дисертационния труд, са спазени.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Дисертационният труд „РОЛЯ НА КИОТОРФИНА В ПОВЕДЕНЧЕСКИТЕ И ХИСТОЛОГИЧНИ ИЗМЕНЕНИЯ ПРЕДИЗВИКАНИ ОТ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЕН МОДЕЛ НА БОЛЕСТТА НА АЛЦХАЙМЕР“, представен от д-р Христина Цанкова Ангелова, задочен докторант към направление „Поведенческа невробиология“, Институт по Невробиология-БАН, съдържа научни резултати, които представляват оригинален принос

в науката и отговарят на изискванията на Закона за развитие на академичния състав в Република България (ЗРАСРБ), Правилника за прилагане на ЗРАСРБ и Правилниците на БАН и ИНБ. Представените материали и дисертационни резултати напълно съответстват, а по някои показатели – надвишават изискванията на Правилника за условията и реда на придобиване на научни степени и заемане на академични длъжности в ИНБ.

Представеният дисертационен труд показва, че д-р Христина Ангелова е придобила задълбочени теоретични знания и професионални умения по научна специалност „Фармакология”, като е развила качества за самостоятелно провеждане на научни изследвания.

Въз основа на гореизложеното, давам положителна оценка за рецензирания дисертационен труд, автореферата, получените резултати и направените приноси. Предлагам на почитаемото Научно жури да присъди образователната и научна степен „Доктор” на д-р Христина Цанкова Ангелова, задочен докторант към направление „Поведенческа невробиология”, Институт по Невробиология-БАН, в докторска програма по Фармакология.

София, 01.06.2023 г

Проф. д-р Александър Стойнев, дмн

RECENSION

of a Thesis presented for conferment of the educational and scientific degree “Doctor” (PhD)
in the professional direction 7.1. Medicine, field of high education 7. Health and sport, scientific
specialty Pharmacology

“ROLE OF KYOTORPHIN IN BEHAVIORAL AND HISTOLOGICAL CHANGES CAUSED BY
AN EXPERIMENTAL MODEL OF ALZHEIMER’S DISEASE

Presented by Dr. Hristina Tsankova Angelova

Extramural PhD student at direction “Behavioral neurobiology”, Institute of Neurobiology (INB),
Bulgarian Academy of Sciences (BAS)

Directors of studies:

Assoc. Prof. Dr. Daniela Pechlivanova, PhD – INB-BAS,

Prof. Dr. Elena Dzhambazova – Medical faculty, Sofia University (SU) “St. Climent Ohridsky”

Referee:

Prof. Dr. Alexander Gueorguiev Stoynev, MD, PhD, DSci – Medical faculty-Sofia, Medical
University

The recension is based on the requirements of the Bulgarian Low for the development of the academic staff and the Regulations for its application, on the requirements and qualitative and quantitative criteria defined by the INB-BAS, on the Order of the Director of INB-BAS № 37/26.04.2023 for appointing a scientific Jury, and the resolution of the Jury/24.04.2023 for nomination of referees.

Dr. Angelova submitted all materials and documents required by the procedure. I declare no conflict of interests, including no co-autorship in papers in the topic of the Thesis.

Dr. Hristina Tsankova Angelova is born 18.02.1977. She graduated as a magister in 2001 – Higher Medical Institute-Pleven. Working positions – surgeon at Medical Center 12 EOOD-Sofia, 1st Hospital MBAL-Sofia (2002-2008), and Clinic of laser medicine (2008); assistant

professor at the department of Anatomy, Pathoanatomy and Forensic medicine – SU Climent Ohridsky (2009-2018); medical director – Company for clinical trials „R&D Services“ (2013 – continuing). She acquired medical specialty in general surgery (2009). After winning a competition she joined the direction “Behavioral Neurobiology” at INB-BAS. She completed successfully educational and scientific programs. She speaks good English.

The Thesis includes 101 standard pages, structured as follows: Content – 2 pp., Abbreviations – 1 p., Introduction – 1 p., Survey of the literature – 28 pp., Goal and aims – 1 p., Materials and methods – 9 pp., Results – 19 pp., Discussion – 11 pp., Conclusions – 1 p., Contributions – 1 pp., References – 23 pp., and Lists of scientific projects, published papers, meeting reports, and citations of the papers in the topic of the Thesis – 3 pp.

The topic of the Thesis embraces the fields of experimental pathophysiology and pharmacology. It treats problems of the present day, mainly basic, with potential significance for the medical practice.

The survey of the literature presents the Alzheimer’s disease – clinical forms, morphological brain changes, functional manifestations and main risk factors (genetic, epigenetic, ecological, and role of some concomitant disorders). Both already established and hypothetic pathogenetic mechanisms of Alzheimer’s disease are reviewed. The streptozotocin model of a sporadic Alzheimer’s disease is presented and discussed. The putative participation of brain neuropeptides in the pathogenesis of Alzheimer’s disease is considered. Special attention is paid to the localization and mechanism of effect of brain kyotorphin, its physiological effects, and modulation of kyotorphin levels by pathological processes in the central neural system.

The survey of the literature is based on an analytical approach and criticism. Dr. Angelova is familiar with the topic considered and demonstrates a high level knowledge and criticism during the evaluation of already published data and hypotheses, allowing her to elaborate on a unbiased assessment of all significant findings and achievements. The reference list numbers 358 titles (5 in Cyrillic and 353 in Latin), including published papers by Bulgarian scientists. On the basis of main trends, disputed and unresolved issues are mentioned, and a working hypothesis is formulated, regarding the role of lowered brain level of kyotorphin in the pathogenesis of Alzheimer’s disease and the putative protective effect of kyotorphin in an experimental animal model of the disease.

The goal and the aims of the study are based on the working hypothesis and, in my opinion, are defined clearly and in a concrete form. The main purpose is to study the role of kyotorphin in behavioral and histological changes in an experimental streptozotocin model of Alzheimer's disease in Wistar rats. The resulting aims include an assessment of the kyotorphin effect on exploratory behavior, memory and nociception in healthy control animals, as well in rats during the early phase of the disease, the latter combined with a study of the deposition of β -amyloid in hippocampus and brain blood vessels. The exploratory behavior, memory and nociception are studied also during the late phase of the disease, together with the levels of carbonylated proteins in hippocampus and prefrontal brain cortex, neuron loss in CA1 and CA3 hippocampal areas, and the deposition of β -amyloid in hippocampus and brain blood vessels.

The experimental animals are raised and maintained under adequate standardized laboratory conditions. The number of animals used, their treatment and manipulations are in accordance with the requirements of the international and national regulations for work using laboratory animals. Modern research methods are used – stereotaxic surgery, experimental model of Alzheimer's disease, a battery of tests for studying locomotor and exploratory activity, anxiety, nociception and memory as well as histological and biochemical techniques to evaluate the brain changes. The experimental design is precise and adequate. Experimental data are processed by appropriate statistical methods. In my opinion the methods and the design used are adequate to the goal and the aims of the Thesis.

The obtained results are quantitatively fully enough to complete the aims of the study. They are processed and presented precisely, clearly, and well arranged. All results are illustrated by well-designed figures (n=26).

The discussion is presented with competence, referring to both classic and recent scientific literature sources. The discussion of own data is accomplished honestly and without bias, thus producing well-grounded conclusions. In my opinion the study presents original findings and contributions, such as the specified effect of kyotorphin on cognition and memory, and its protective effect established in rats with experimental streptozotocin model of sporadic Alzheimer's disease. The conclusions and contributions formulated by Dr. Angelova are based on her own experimental data obtained in the presented study. I accept them with no objections.

Results obtained in the study are published in four scientific papers, with Dr. Angelova as first (leading) co-author. Two among these papers appeared in Impact factor-worth scientific

journals, one of them being cited 6 times in international sources (4 journals and 2 theses). One more paper is cited 2 times in international sources (1 journal and 1 thesis). Data from the thesis study are reported on 11 scientific meetings (6 international or with international participation). Thus the scientific activity of Dr. Angelova goes beyond the quantitative criteria established by the actual national and institutional regulations.

The Thesis booklet presents adequately the content of the study.

All my critical remarks, suggestions and recommendations during the preliminary presentation of the Thesis are respected and used in the final edition of the text and the final presentation.

CONCLUSION

The study “ROLE OF KYOTORPHIN IN BEHAVIORAL AND HISTOLOGICAL CHANGES CAUSED BY AN EXPERIMENTAL MODEL OF ALZHEIMER’S DISEASE”, presented by Dr. Hristina Tsankova Angelova, extramural PhD student at direction “Behavioral neurobiology”, Institute of Neurobiology, Bulgarian Academy of Sciences, contains scientific results representing an original contribution and satisfying the requirements of the Bulgarian Law for the development of the academic staff and the Regulations for its application, as well as the requirements and regulations defined by BAS and INB. Some parameters achieved even exceed the qualitative and quantitative criteria defined by INB.

The thesis submitted demonstrates the thorough theoretical erudition and professional skills acquired by Dr. Hristina Angelova in the scientific field “Pharmacology” and her ability to conduct autonomously scientific research. Based on the statements above, I give a positive evaluation of the Thesis presented including the results, the contributions, and the thesis booklet. I recommend to the honoured Jury to confer the educational and scientific degree “Doctor” (PhD) on Dr. Hristina Tsankova Angelova, extramural PhD student in a doctor’s program of pharmacology at direction “Behavioral neurobiology” of the Institute of Neurobiology-BAS.

Sofia, 01.06.2023

Prof. Dr. Alexander Stoynev, DMSci