

РЕЦЕНЗИЯ

от проф. Атанас Димитров Кръстев, д.б.н.,

ръководител на катедра по медицинска физика и биофизика на МУ - Пловдив,

4000 Пловдив, бул. "Васил Априлов"15А,

e-mail: athanas_kristev@yahoo.com

на дисертационен труд на тема: **„ВЪЗПАЛЕНИЕ И ОКСИДАТИВЕН СТРЕС ПРИ СТАРЕЕНЕ И ВЪЗРАСТОВО-ОБУСЛОВЕНИ ЗАБОЛЯВАНИЯ”**, представен от доц. **Маргарита Любомирова Александрова, д.м.** за придобиване на научната степен **„ДОКТОР НА НАУКИТЕ”** по научната специалност **„Биофизика” (01.06.08)**

Дисертационният труд на доц. Маргарита Александрова обсъжда потенциалната роля на оксидативния стрес и възпалението в процесите на стареене и при някои съпътстващи стареенето заболявания - мозъчен инсулт, артериална хипертония и диабет (тип 2). Стареенето е сред относително слабо изяснените биологични явления, главно поради неговата вътрешно-присъща комплексност и интегрална природа и поради възникващите трудности за разграничаване на ефектите на нормалното стареене от тези, дължащи се на възрастово-обусловени болестни състояния. Въпреки че фундаменталните механизми на процеса на стареене и свързаните с него заболявания са недостатъчно проучени, има натрупани известни доказателства, че тяхна потенциална детерминанта е про/антиоксидантният дисбаланс в организма. Проучванията на доц. Александрова са в посока на това направление – изясняване ролята на възпалителния и про/антиоксидантен статус на кръвта при стареене и в патофизиологията на възрастово-обусловени заболявания.

Данните от дисертационния труд сочат, че отличителна черта на процеса на стареене е постепенното акумулиране на клетъчни увреждания, причинени от продължително протичащи оксидативни и възпалителни процеси.

В работата са установени увеличени нива на вътреклетъчен митохондриален оксидативен стрес, фагоцитна функционална алтерация и завишени нива на оксидативно увреждане с възрастта. Тези нежелани събития се усилват още повече в условията на заболявания. Изследвани са процесите, чрез които стареенето води до увеличена интензивност на радикалообразуване в организма. Разкрити са интересни отношения между тежестта на патологичното състояние и нивото на оксидативен стрес при болните. Тези данни са обобщени като хипотеза, която внушава, че увеличената оксидативна активност служи като платформа за развитие на проучваните възрастово-обусловени заболявания.

Изследваните в дисертационния труд проблеми са относително недобре проучени в литературата и данните за тях са противоречиви.

Ръкописът е представен по класическата за страната схема на дисертационен труд на 383 страници. Илюстриран е с 74 фигури и съдържа 22 таблици. Литературният обзор, използваните изследователски методи, анализът на резултатите и направените изводи са подкрепени от 817 заглавия на публикации на цитирани автори, 73 (около 9%) - от последните 5 години.

I. ЛИТЕРАТУРЕН ОБЗОР

Доц. Александрова прави обширен (145 страници) литературен преглед по застъпените в дисертацията проблеми. Разбира се моята висока оценка не е свързана с обема на обзора. Трябва да се признае неговата изчерпателност,

подреденост и пунктоалност. Той очертава акумулираното научно познание за ролята на възпалението и оксидативния стрес при физиологично стареене и патологични условия, демонстрирайки задълбочените знания на автора върху двойствената роля на свободните радикали и активни кислородни частици, като сигнални молекули и като медиатори на клетъчното увреждане. С дълбоко познаване са представени ролята на възпалението и оксидативния стрес при стареене, предложени са съвременни виждания за оксидативния стрес като един от важните механизми, отговорен за тежестта и степента на увреждания при мозъчен инсулт, както и при постинсултни когнитивни нарушения. Разгледани са промените, настъпващи в активността на ключови антиоксидантни ензими и някои непосредствени увреждания на жизненоважни молекули като протеини и нуклеинови киселини в хода на стареене. Подробно са обсъдени патофизиологичните механизми при мозъчен инсулт в острия му и хроничен стадий и участието на свободно-радикалните процеси в тях.

Обзорът цитира публикации на доц. Александрова, близки до темата на дисертационния ѝ труд, но невключени в него, което подсказва дългогодишни системни научни занимания в сферата на разглежданата проблематика.

По редица проблеми, изложени в обзора присъства и личната позиция на дисертантката. В някои случаи авторовите виждания са представени чрез хипотетични схеми на механизми, участващи в развитието на един или друг процес. Тези нейни усилия говорят за задълбочено познаване на въпросните процеси.

Впечатлението за високо качество на изложението се подсилва и от присъствието на обобщения по темата в края на всеки раздел.

Обзорът преминава в МОТИВАЦИЯ ЗА ПРОВЕЖДАНЕ НА НАУЧНОТО ИЗСЛЕДВАНЕ, обосноваваща целта и задачите. В този раздел са формулирани нерешените проблеми, свързани с мястото и ролята на оксидативния стрес при стареене, наличие или отсъствие на полово-обусловени различия в про/антиоксидантния статус на кръвта, активността на оксидативните процеси при различните видове инсулти и значението им за тяхната прогноза, за тежестта на неврологичните увреждания и развитието на когнитивен дефицит.

II. ЦЕЛ И ЗАДАЧИ

Макар и пространно, предвид значителния обем и разнообразие на изследванията, присъстващи в дисертацията, целта е представена добре и съответства на темата на дисертационния труд.

За нейното изпълнение прецизно са формулирани 12 основни задачи, брой, който е напълно приемлив и често наблюдаван при дисертации за присъждане на степента “Доктор на науките” .

III. МАТЕРИАЛ И МЕТОДИ

В този раздел върху 19 страници са представени прецизно и информативно подходите за подбор на изследователски материал и на 301 пациенти, както и условията за обособяване на различните изследвани групи, които са основна предпоставка за истинност на получените резултати и актуалност на направения върху тях анализ. Диагнозата и стадията на исхемичния и хеморагичен инсулт се основават на съвременни критерии на СЗО за оценка на инсулта – задължително компютър-томографско изследване с анализ на клиничната картина посредством използването на обективни

неврологични скали за тежестта на състоянието и нивото на неврологична инвалидизация. Без да е натрапчиво са представени референтни стойности на различните показатели, използвани за характеризиране състоянието на пациентите от отделните групи. Считаю, че този подход улеснява четящия. Про/антиоксидантният статус на кръвта е изследван с голям набор от методики, които позволяват комплексната му оценка, а именно:

- o Периферни маркери на възпаление;
- o Вътре- и извънклетъчна фагоцитна оксидативна активност;
- o Оксидативна активност на плазмата;
- o Антиоксидантен потенциал на кръвта;
- o Ниво на оксидативно увреждане в циркулацията.

Използването на хемилуминесцентни методи дава възможност на дисертантката да изследва кинетиката на процеса на радикалообразуване, както и да получи информация за различни аспекти на фагоцитната активност по отношение на образуването на кислородни метаболити: скорост на активиране, максимална и интегрална оксидативна активност.

Описанието на използваните методи (биофизични и биохимични) демонстрира експерименталната компетентност на доц. Александрова, и заедно с подходящо използваните разнообразни статистически методи я представя като изграден изследовател.

IV. СОБСТВЕНИ РЕЗУЛТАТИ, ОБСЪЖДАНЕ, ИЗВОДИ

Този раздел е разработен от дисертантката в пет части, в които се проследяват промените на различни показатели, характеризиращи процеса на възпаление и описващи про/антиоксидантният статус на кръвта при стареене, при остър исхемичен инсулт, при остър хеморагичен инсулт, в условия на

хроничен стадий на мозъчен инсулт, както и при хипертоници и диабетици (тип 2). Всяка част има структурата на планиран и добре изпълнен научно-изследователски проект. Онагледяването е сполучливо (74 фигури и 22 таблици). Дисертантката получава данни в полза на митохондриалната теория на стареене, съгласно която митохондриите са най-важният вътреклетъчен източник на оксидативен стрес. Друга важна находка е установената алтерация на фагоцитната функция с възрастта. В дисертационния труд е проследена и динамиката на възпалителните и оксидативни процеси, както и на неврологичния и когнитивен статус след инсулт в остър и хроничен стадий. Това е важно, тъй като е известна динамичната природа на инсулта, включваща процеси на преход от обратимо към необратимо мозъчно увреждане. Установени са множество значими връзки между редица биохимични и неврологични показатели в хода на болестния процес.

За вероятния изход от острата фаза на инсулта дисертантката е използвала най-подходящите, съгласно литературата, клинични показатели - ниво на инвалидизация и леталитет. В работата са получени данни относно предсказване на изхода от инсулта, които могат да бъдат полезни при идентифицирането на рехабилитационния потенциал на болните. Бих искал да подчертая, че в дисертационния труд са търсени не само корелационни връзки между изследваните възпалителни и оксидативни показатели, но са изградени и регресионни модели, които дават количествена оценка на корелационните зависимости чрез претеглянето на променливите в съответствие с техния относителен принос в предсказването на инсулта. В дисертацията са разработени следните прогностични модели:

- Бинарен логистичен регресионен модел за леталитет и клиничен изход при остър инсулт;

- COX регресионен модел за преживяемост на болните с инсулт за период от половин година;
- Бинарен логистичен регресионен модел за оценка на прогностичната стойност на значими фактори върху когнитивния статус в острия стадий на инсулта;
- Ординален логистичен регресионен модел за оценка на прогностичната стойност на значими фактори върху когнитивния статус на първата година след инсулта.

Конструиранияте модели са подробно описани и анализирани. Като независими променливи в тях са включени значими радиологични и биохимични показатели, определени въз основа на данните от еднофакторния анализ. Всички модели са валидизирани с помощта на ROC анализ. Достоинство на работата са приведените данни за доверителните интервали за чувствителност и специфичност, въз основа на които може да се съди за качеството на предложените модели. Броят на включените в анализите болни е напълно адекватен и съобразен с утвърдени за целта статистически критерии. Показано е, че моделите могат правилно да предсказват клиничния изход от болестта при повече от 70% от болните.

Несъмнена е ролята на ранната и надеждна прогноза на клиничния изход след инсулт. Затова високо оценявам направените в дисертацията изводи относно възможността възпалителни и оксидативни биомаркери да служат като прогностични фактори за тежестта и изхода от инсулта. Искам обаче да отбележа, че съществуват ограничения при приложението на изградените прогностични модели, произтичащи от факта, че те са формирани въз основа на резултати, получени с дефинирана група пациенти с инсулт. С други думи, тези модели могат да се използват само при болни,

които отговарят на критериите на изследването и не са приложими за всички пациенти с инсулт. Затова е добре резултатите да бъдат потвърдени с друга група подобни пациенти и в друг болничен център, за да се провери достоверността на прогностичните уравнения.

Като цяло обсъждането е задълбочено. Доц. Александрова демонстрира добро познаване на процесите на продукция на активни форми на кислорода, участието на различни сигнални трансдукционни механизми и вътреклетъчни посредници при изследваните процеси, което прави анализа на получените резултати актуален. Доц. Александрова достига до интересни изводи, които са синхронни с получените резултати. Така например, данните, получени с болните с инсулт са съпоставени с тези, регистрирани от лица със съдови рискови фактори без съдов инцидент. Логичен е направеният извод, че нискостепенното съдово възпаление и оксидативният дисбаланс в циркулацията са потенциалните механизми, обединяващи стареенето и възрастово-обусловените заболявания.

V. ПРИНОСИ

Приносите на дисертационния труд са представени добре. Според моето виждане по-съществени от тях са следните:

Потвърдителни:

Установени са редуцирани антиоксидантни възможности, увеличен вътреклетъчен оксидативен стрес в митохондриите и повишено ниво на оксидативно увреждане в циркулацията на възрастни хора;

Показано е, че С-реактивният протеин е независим предиктор на преживяемостта след инсулт.

Установени са положителни корелационни връзки между показатели за

липидна пероксидация и брой периферни левкоцити, от една страна, и размер на инфаркта и ниво на инвалидизация след мозъчен инсулт, от друга.

Оригинални:

За първи път е показано, че стареенето модулира само екстрацелуларния дял на медиацията от fMLP- и F_c-рецепторите оксидативен отговор на периферни фагоцити.

При болни с исхемичен инсулт опсонин-зависимата екстрацелуларна оксидативна активност на периферните фагоцити е индикатор за тежестта на неврологичния дефицит и нивото на инвалидизация.

За първи път оксидативен маркер (ROOH) в серума е предложен като независим прогностичен показател за неблагоприятен клиничен изход след хеморагичен инсулт.

Установени са независими прогностични фактори за когнитивен упадък в хроничен стадий, отчитайки три нива на когнитивния статус.

Като принос могат да се разглеждат и разработените схеми на предполагаеми механизми на увреждане при двата вида инсулт с акцент върху възпалението и оксидативния стрес.

VI. ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Дисертационният труд е построен въз основа на 15 публикации (ИФ = 12.853), в 14 от които доц. Александрова е първи автор и 6 участия в конгреси и конференции. Индивидуалният ѝ ИФ е 6.734. Значимостта и актуалността на създаденото от нея по дисертационната тема е несъмнена и се доказва с големия брой цитирания (над 120 пъти), повечето в списания с импакт фактор.

Представеният дисертационен труд отговаря на изискванията на Закона

за развитието на академичния състав в Р. България и Правилника за неговото приложение.

Според изпратените документи, доц. Александрова напълно покрива, а в някои случаи (цитирания на нейни трудове) значително надхвърля, изискванията за количествени наукометрични показатели, предвидени от Правилника на МУ-Плевен, към защитаващите дисертация „Доктор на науките”.

Доц Александрова е представила като своя дисертация един оригинален, впечатляващ с интересната си гледна точка и дълбочина на разкриване на изследваните процеси труд със съществени научни приноси.

Оценявам високо направеното от нея във **„ВЪЗПАЛЕНИЕ И ОКСИДАТИВЕН СТРЕС ПРИ СТАРЕЕНЕ И ВЪЗРАСТОВО-ОБУСЛОВЕНИ ЗАБОЛЯВАНИЯ”**, ще гласувам положително за присъждане на научната степен **„ДОКТОР НА НАУКИТЕ”** по научната специалност **„Биофизика”** (01.06.08) и се надявам това мое становище да бъде споделено и от останалите членова на научното жури.

Проф. Кръстев:

14. март 2012 год.

Пловдив