

СТ А Н О В И Щ Е

от проф. д-р Анелия Александрова Димитрова, дм,
Катедра „Физиология и патофизиология” при Медицински факултет на
Медицински университет - Плевен

ОТНОСНО: Дисертационен труд за присъждане на образователната и научна степен „ДОКТОР” на Калина Стефчева Илиева, преподавател в сектор „Биология” към катедра „Анатомия, хистология, цитология и биология” на Медицински факултет при МУ-Плевен.

Със заповед на Ректора на МУ-Плевен № 1024/02.04.2025 г. и решение на Председателя на Научното жури съм определена да представя становище във връзка с дисертационен труд на тема *„Ефекти на мелатонинергични препарати върху животински модели на невродегенеративни заболявания”* за придобиване на ОНС „доктор” по докторска програма „Медицинска биология”, професионално направление 7.1. Медицина, област на висше образование 7. Здравеопазване и спорт. Автор на дисертационния труд е Калина Стефчева Илиева, преподавател в сектор „Биология” към катедра „Анатомия, хистология, цитология и биология” на Медицински факултет при МУ-Плевен. Ръководители на дисертационния труд са: проф. Милена Атанасова Атанасова- Радева, д.б. и проф. д-р Яна Димитрова Чекаларова, д.м.

Калина Илиева е представила всички необходими документи съгласно изискванията на Закона за развитие на академичния състав и правилника на МУ-Плевен. Декларирам, че нямам конфликт на интереси, вкл. съавторство в публикациите на кандидатката, с които тя участва в процедурата.

Калина Илиева е родена в гр. Плевен през 1983 г. През 2008 г. завършва специалност „Биотехнологии” в СУ “Климент Охридски”. Има придобита специалност по „Медицинска биология” през 2018 г. От 2012 г. е асистент, а по-късно преподавател в катедра „Анатомия, хистология, цитология и биология” при МУ-Плевен.

Темата на дисертационния труд е актуална, касаеща болестта на Алцхаймер (БА). Това е хронично, прогресивно невродегенеративно заболяване, което засяга основно възрастните хора и е свързано със загуба на мозъчни клетки и увреждане на междуневроналната комуникация. Характеризира се с натрупване на специфични структури в мозъка, наречени амилоидни плаки и неврофибриларни възли. С

напредването на болестта се появяват и симптоми като проблеми с говора, дезориентация, промени в настроението, загуба на мотивация, затруднения при ежедневни дейности и поведенчески проблеми. Съвременните научни изследвания показват, че диагнозата се поставя трудно, а използваните лечения водят до ограничени подобрения, но не могат да спрат развитието на болестта. Затова изучаването на причините за възникване на БА и начините за терапевтично повлияване са от изключително значение за превенцията на това социално-значимо заболяване.

Целта на дисертацията, която е да се проучи ефекта на антидепресанта агомелатин (Ago) върху поведенческите, биохимичните и хистологичните промени при два модела на БА, при мъжки полово зрели плъхове, определят актуалността на разработката, а възможността за прилагане на получените резултати в практиката определят високата ѝ стойност.

Дисертацията е написана на 146 страници и онагледена с 32 фигури и 2 таблици. Използваната литература включва 167 заглавия, по-голямата част от които са от последните години. Изложението е ясно и работата като цяло е много добре оформена.

Литературният обзор е изчерпателен и задълбочен. Прави впечатление широкото ползване и познаване на световната литература по проблема. Целта е ясно формулирана и за постигането ѝ са представени шест задачи. Изследвани са 87 мъжки тримесечни мъжки плъхове от породите Sprague Dawley (40 бр.) и Wistar (47 бр.). Методите са адекватни и информативни. Използвани са два модела за спорадичен Алцхаймер: първият модел е чрез интрацеребровентрикуларно (icv) инжектиране на стрептозотоцин и втори модел чрез icv инжектиране на A β ₁₋₄₂. Приложени са и различни поведенчески тестове, отчитащи: памет, тревожност и депресивно-подобно поведение. Други използвани методи са биохимични, хистологични и статистически за обработка на конкретните данни.

Резултатите са обективни и достоверни, като обсъждането им е направено компетентно и задълбочено. Формулирани са 6 основни извода, които ги приемам. Те отразяват точно и пълно основните постижения на представения труд.

Калина Илиева показва значителен по брой приноси, които са представени и аргументирани добре. За първи път са доказани благоприятните ефекти на Ago при два плъши модела на БА с различни схеми на прилагане: доказва се облекчаването на когнитивните и поведенческите нарушения, характерни за БА; установява се понижаване експресията на A β и понижава нивата на проинфламаторни маркери във фронтална кора и хипокампа при стрептозотоциновия модел на БА. За пръв път е проведено изследване, касаещо промените в количествата на секретазни ензими под влияние на агомелатин. При

амилоидния модел, освен че понижава нивата на $A\beta$, агомелатинът намалява и концентрацията на гама секретазата в хипокампа. Влиянието на агомелатина върху секретазните ензими се отразява и на алфа секретазата, чиято концентрацията в хипокампа е повишена. И при двата модела агомелатинът оказва невропротективен ефект, най-силно изразен в CA1 полето на хипокампа.

От приносите с потвърдителен характер е доказана невроналната загуба в определени мозъчни структури (хипокамп, базолатерална амигдала и пириформена кора) след icv инфузия с STZ и $A\beta$ 1-42. Двата плъши модела, icvSTZ и $A\beta$ 1-42, се характеризират с повишена експресия на $A\beta$. Стрептозотоциновият модел показва повишени нива на провъзпалителни цитокини ($IL-1\beta$ и $TNF-\alpha$) и тау протеин във фронтална кора и хипокамп.

Резултатите от дисертацията са публикувани в 3 статии: две от публикациите са с IF в Norm Behav и Physiol Behav и една в Journal of Biomedical and Clinical Research. Представени са и 4 съобщения с публикувани резюмета, изнесени на национални и международни форуми в България.

Заключение:

Представеният ми за становище дисертационен труд съдържа значителни научни и практически приноси и отговаря на качествените и количествените критерии, заложили в Правилника за развитие на академичния състав на МУ- Плевен към Закона за развитие на академичния състав на Р. България. Поради това давам положителна оценка на труда и призовавам членовете на Научното жури да гласуват положително за присъждането на научната степен „ДОКТОР” на Калина Стефчева Илиева.

22.04.2025 г.

Плевен

На основание чл. 59 от ЗЗЛД

Проф. д-р Анелия Димитрова, дм

OPINION

by Prof. Anelia Aleksandrova Dimitrova, MD, PhD,
Department of Physiology and Pathophysiology,
Faculty of Medicine, Medical University – Pleven

REGARDING: The dissertation submitted for the award of the educational and scientific degree "Doctor" by Kalina Stefcheva Ilieva, lecturer in the Biology Division of the Department of Anatomy, Histology, Cytology, and Biology at the Faculty of Medicine, Medical University – Pleven.

By order of the Rector of MU-Pleven No. 1024/02.04.2025 and the decision of the Chair of the Scientific Jury, I have been appointed to provide an opinion on the dissertation entitled *“Effects of Melatonergic Compounds on Animal Models of Neurodegenerative Diseases”*, submitted for the acquisition of the PhD degree in the doctoral program “Medical Biology”, professional field 7.1. Medicine, in the area of higher education 7. Healthcare and Sports. The author of the dissertation is Kalina Stefcheva Ilieva, a lecturer in the Biology Division at the Department of Anatomy, Histology, Cytology, and Biology, Faculty of Medicine, MU-Pleven. The dissertation supervisors are Prof. Milena Atanasova Atanasova-Radeva, PhD in Biology, and Prof. Yana Dimitrova Chekalarova, MD, PhD.

Kalina Ilieva has submitted all required documentation in accordance with the Law on the Development of the Academic Staff and the regulations of MU-Pleven. I declare that I have no conflict of interest, including no co-authorship in the publications submitted by the candidate.

Kalina Ilieva was born in the city of Pleven in 1983. In 2008, she graduated in Biotechnology from Sofia University “St. Kliment Ohridski.” She obtained a specialization in Medical Biology in 2018. Since 2012, she has been an assistant, and subsequently a lecturer, at the Department of Anatomy, Histology, Cytology, and Biology at MU-Pleven.

The topic of the dissertation is highly relevant, addressing Alzheimer’s disease (AD)—a chronic, progressive neurodegenerative disorder predominantly affecting the elderly. It is characterized by neuronal loss and disruption in interneuronal communication, along with the accumulation of amyloid plaques and neurofibrillary tangles in the brain. As the disease

progresses, symptoms such as speech impairments, disorientation, mood changes, lack of motivation, difficulties in daily activities, and behavioral problems manifest. Current scientific evidence indicates that diagnosis is challenging, and available treatments provide only limited improvements without halting disease progression. Therefore, research into the causes and therapeutic strategies for AD is of critical importance for the prevention of this socially significant condition.

The objective of the dissertation—to study the effect of the antidepressant agomelatine (Ago) on behavioral, biochemical, and histological changes in two rat models of AD—highlights the research's relevance and practical value.

The dissertation spans 146 pages and includes 32 figures and 2 tables. The literature review references 167 sources, most of which are recent. The exposition is clear, and the overall structure of the work is excellent.

The literature review is comprehensive and well-grounded, demonstrating a strong familiarity with global research on the topic. The research objective is clearly stated and supported by six specific tasks. The study involved 87 male, three-month-old rats from the Sprague Dawley (40 rats) and Wistar (47 rats) strains. Appropriate and informative methods were employed, including two sporadic AD models—intracerebroventricular (icv) injection of streptozotocin (STZ) and icv injection of A β 1-42. Behavioral tests assessing memory, anxiety, and depression-like behavior were conducted, along with biochemical, histological, and statistical analyses.

The results are objective and reliable, and the discussion demonstrates deep understanding. Six main conclusions are presented, all of which are well-substantiated and accurately reflect the study's key findings.

Kalina Ilieva presents numerous contributions, clearly described and convincingly argued. Notably, this is the first study to demonstrate the beneficial effects of Ago in two rat models of AD using different administration protocols. The study confirms alleviation of cognitive and behavioral deficits, reduced A β expression, and decreased levels of proinflammatory markers in the frontal cortex and hippocampus in the STZ model. It is also the first to explore changes in secretase enzyme levels under agomelatine influence. In the amyloid model, agomelatine reduces A β levels and γ -secretase concentration in the hippocampus, while

increasing α -secretase levels. Agomelatine exhibits neuroprotective effects in both models, most prominently in the CA1 region of the hippocampus.

Among the confirmatory contributions is evidence of neuronal loss in specific brain regions (hippocampus, basolateral amygdala, and piriform cortex) following icv infusion of STZ and A β 1-42. Both models are characterized by increased A β expression. The STZ model also shows elevated levels of proinflammatory cytokines (IL-1 β and TNF- α) and tau protein in the frontal cortex and hippocampus.

The dissertation results have been published in three scientific articles: two indexed with impact factor (Horm Behav and Physiol Behav), and one in the Journal of Biomedical and Clinical Research. Four additional abstracts were presented at national and international conferences in Bulgaria.

Conclusion:

The submitted dissertation contains significant scientific and practical contributions and fully meets the qualitative and quantitative criteria outlined in the Regulations for the Development of Academic Staff at MU-Pleven, in accordance with the Bulgarian Law on the Development of Academic Staff. Therefore, I give a **positive evaluation** and recommend that the members of the Scientific Jury vote in favor of awarding the PhD degree to Kalina Stefcheva Ilieva.

April 22, 2025
Pleven

На основание чл. 59 от ЗЗЛД
Prof. Anelia Dimitrova, MD, PhD