

## РЕЦЕНЗИЯ

от проф. д-р Стефка Василева Вълчева-Кузманова, д.м., д.м.н.

Катедра по фармакология и клинична фармакология и терапия,

Факултет „Медицина“ при МУ – Варна

на дисертационен труд за присъждане на образователната и научна степен 'доктор'

професионално направление 7.1. Медицина

докторска програма **Фармакология (вкл. фармакокинетика и химиотерапия)**

**Автор: Наталия Борисова Вилмош**

**Форма на докторантурата:** самостоятелна подготовка

**Катедра:** Фармакология и клинична фармакология

**Тема:** Изследване на фармакологични ефекти на *Satureja montana*

**Научен ръководител:** проф. д-р Иванка Илиева Костадинова, д.м., МУ – Пловдив

Със заповед на Ректора на МУ – Пловдив Р-2782/04.11.2022 г. съм утвърдена за член на Научното жури, а с решение на заседание на Научното жури (Протокол №1 от 07.11.2022 г.) съм избрана да изготвя рецензия по процедура за присъждане на образователната и научна степен 'доктор' на д-р Наталия Борисова Вилмош.

### 1. Общо представяне на процедурата и докторанта

Представеният набор от документи в електронен формат е в съответствие със Закона за развитие на академичния състав в Република България, Правилника за прилагане на Закона за развитието на академичния състав и Правилника на МУ-Пловдив от 28.01.2021 г. – чл. 70 (1) от Раздел I. Придобиване на образователна и научна степен "ДОКТОР" в МУ-Пловдив.

Д-р Наталия Вилмош е приложила 3 публикации, от които 2 са реферирани в Scopus и 1 е в нереперирано списание. По този начин са изпълнени минималните изисквания на Правилника за академично развитие в МУ-Пловдив (2021).

### 2. Кратки биографични данни за докторанта

Д-р Наталия Вилмош е родена на 04. 10. 1993 г. Тя е магистър по Медицина – завършва Медицински Университет – Пловдив през 2018 г. От 2019 г. работи като асистент в Катедра по фармакология и клинична фармакология“, МФ при МУ – Пловдив. Зачислена е като

докторант на самостоятелна подготовка със Заповед на Ректора на МУ – Пловдив Р-1275/31.05.2022.

Владее немски език (ниво C1) и английски език (ниво C1). Член е на Българското дружество по клинична фармакология от 2021 г. и на МНД Асклепий от 2020 г. Има завършени курсове и обучения: Статистически програмен пакет SPSS, Защита и хуманно отношение към опитни животни, използвани за научни или образователни цели, Училище по персонализирана медицина, История на медицината, Спортна медицина и Хомеопатия.

### **3. Актуалност на тематиката и целесъобразност на поставените цели и задачи**

В последните години се изследват изключително интензивно растенията като източник на молекули с потенциално приложение като лекарства. Изследването на състава на лечебните растения има за цел да постави научни основи на тяхното традиционно използване в народната медицина. Предимство на биологично активните вещества от растителен произход е техният добър профил на безопасност. Въпреки дългогодишния клиничен и изследователски опит, се смята, че само незначителна част от растенията са проучени като състав и лечебни ефекти.

В този смисъл изследването на растението *Satureja montana* е много актуално и има важни приноси с научна и научно-приложна стойност. Прегледът на научната литература показва, че досега са установени някои фармакологични ефекти на *Satureja montana* – антиоксидантен, антибактериален, противовирусен.

Дисертационният труд е посветен на непроучени до този момент фармакологични ефекти на *Satureja montana*, като целта е стандартизиран сух екстракт от растението да се изследва за антиоксидантна активност *in vitro*, както и за токсичност, и за аналгетичен, противовъзпалителен, анксиолитичен и антидепресивен ефект след перорално приложение на мъжки бели плъхове.

За осъществяване на тази цел са поставени 9 много обемни задачи – като се започне от стандартизиране на екстракта, регистриране на изброените по-горе ефекти и изследване на маркери и биохимични показатели, които могат да се използват за обяснение на наблюдаваните ефекти.

#### **4. Познаване на проблема**

Д-р Наталия Вилмош е направила много обстоен обзор на литературата в няколко аспекта: стрес, корелация между стрес и оксидативен стрес, ролята на оксидативния стрес и на хроничното нискостепенно възпаление в патогенезата на социалнозначимите заболявания и на психиатричните заболявания, корелация между стреса и възпалението, както и между оксидативния стрес и възпалението. От обстойния литературен обзор става ясно, че д-р Вилмош добре познава ролята на проинфламаторните цитокини при възпалителните процеси. Тя посочва съвременните възможности за терапия на оксидативния стрес и хроничното нискостепенно възпаление.

Детайното познаване на патогенетичните механизми на стреса, възпалението и болката е насочило д-р Вилмош към избор на подходящи индекси за оценка на наличието на ефект на екстракт от *Satureja montana* върху болката и възпалението, както и за изследване на психофармакологични ефекти на екстракта в модели стрес.

Важен раздел в литературния обзор е посветен на охарактеризиране на растението *Satureja montana*, и на установените до този момент ефекти на екстракти от него – антиантиоксидантен, антибактериален и противовирусен. Доброто познаване на известните досега ефекти е предпоставка за насочване на д-р Вилмош към търсене на неустановени до този момент активности и действия с цел евентуално бъдещо практическо приложение на екстракта.

Описани са фармакологичните ефекти на розмаринова киселина и карвакрол, които са използвани за стандартизиране на прилагания в експериментите сух екстракт от *Satureja montana*. Охарактеризирането на тези вещества е много важно и поради факта, че те са използвани и в експериментите – с тях са сравнявани ефектите на сух екстракт от *Satureja montana*.

От литературния обзор става ясно, че д-р Вилмош е проучила утвърдените в експерименталната изследователска практика модели и методи за изследване на възпаление и болка, модели на стрес, както и методи за изследване на тревожност и депресия. Това й дава възможност да направи правилен избор на модели и методи за своята изследователска работа с екстракт от *Satureja montana*.

#### **5. Методика на изследването**

Изследванията, свързани с дисертацията, включват изключително многообразна методология. Има няколко групи методи: I. Екстракция, последвана от стандартизиране на

екстракта чрез HPLC и спектрофотометрично определяне на неговия полифенолен състав; II. In vitro определяне на антиоксидантната активност на екстракта чрез Oxygen Radical Absorbance Capacity, Hydroxyl Radical Averting Capacity и електрохимичен метод; III. Изследвания при експериментални животни. Последната група методи включва: 1. Определяне на остра и хронична токсичност, верифицирана чрез хематологични показатели, биохимичен анализ и хистологично изследване на черен дроб, бъбрек и мозък; 2. Изследване на аналгетичен ефект при 2 срока на третиране – 14 и 30 дни, чрез 2 теста: тест с отдръпване на опашката и плантарен тест; 3. Изследване на аналгетичен ефект на двете дози от екстракт от *Satureja montana* при 2 срока на третиране – 14 и 30 дни, в модел на карагенан-индуцирано възпаление на лапата; 4. Изследвания в 2 модела на стрес – остър студов и хроничен. В тези 2 модела на стрес е проведена много обемна изследователска работа, като са проследени ефектите на двете дози екстракт от *Satureja montana* (250 mg/kg и 500 mg/kg) върху нивата на цитокини IL-1 $\beta$ , IL-6 и TNF- $\alpha$  чрез използване на ELISA метод; установени са ефектите върху поведенческите реакции и разпознавателната памет, а в модела на хроничен стрес са проследени и ефектите върху биохимични показатели (холестерол, глюкоза, триглицериди и пикочна киселина), както и върху теллото на животните. Поведенческите тестове, проведени в двата модела на стрес, са: тест повдигнат кръстосан лабиринт, тест за социално взаимодействие, тест за конфликт на Vogel и локомоторна активност в апарат activity cage, които измерват нивата на тревожност; тест за разпознаване на нов обект, който измерва разпознавателната памет; тест за принудително плуване, който измерва депресивната симптоматика.

Във всички експерименти се определят ефектите на 2 дози от сух екстракт от *Satureja montana* (250 mg/kg и 500 mg/kg), като се сравняват с ефектите на карвакрол (500 mg/kg) и розмаринова киселина (15 mg/kg).

Избрани са много адекватни методи и модели за установяване на фармакологичните ефекти на екстракт от *Satureja montana*. Те са утвърдени във фармакологичната изследователска практика и дават възможност да се направят адекватни изводи, даващи отговор на поставените задачи на изследването.

Оценявам високо факта, е че са използвани изключително голям брой фармакологични методи, усвояването на които е предпоставка за много успешна бъдеща изследователска работа на д-р Наталия Вилмош.

## **6. Характеристика и оценка на дисертационния труд**

Дисертационният труд е добре структуриран и включва следните раздели: Въведение – 4 страници, Литературен обзор – 38 страници, Цел и задачи – 1 страница, Материал и методи – 19 страници, Резултати – 80 страници, Обсъждане – 36 страници, Заключение – 2 страници, Изводи – 1 страница, Приноси – 1 страница, Библиография – 31 страници, включваща 443 източника на английски език.

Още с обстойния и много насочен литературен обзор д-р Наталия Вилмош насочва читателя към аспектите на проведената изследователска работа. Изяснените в обзора патогенетични механизми на възпалението, болката, оксидативния стрес, стреса, както и корелцията между тях, са умело използвани по-нататък като обяснение за наблюдаваните ефекти на екстракт от *Satureja montana*.

Познаването на литературата за вече публикувани изследвания с растението *Satureja montana* дава възможност на д-р Вилмош, направлявана компетентно от своя научен ръководител, проф. д-р И. Костадинова, да насочи работата си към неизследвани до този момент ефекти, което допринася за оригиналността на получените резултати.

Целта е ясно формулирана. За да се постигне изпълнение на целта, са поставени девет задачи, които предполагат изключително разнопосочна и много обемна изследователска работа.

Материалите и методите са подробно и точно описани, което показва много добро познаване на изследователските методи и свидетелства за личната ангажираност на д-р Вилмош.

Много точно са представени експерименталните групи, като прегледно в табличен вид са посочени съответните третириания. Правилно са подбрани третириания за сравнение – карвакрол и розмаринова киселина, които са компоненти на екстракта от *Satureja montana*, са използвани във всички експерименти, докато при изследването за аналгетичен ефект има допълнителна група за сравнение – третирана с *metamizole*, а при изследването за противовъзпалителен ефект – третирана с *diclofenac*. Във всяка експериментална група има оптимален брой опитни животни – осем.

Резултатите от изследванията са представени подробно и онагледени с 97 таблици и 4 фигури. В таблиците стойностите са представени като  $\text{mean} \pm \text{SEM}$ . Ппосочена е статистическата значимост, която е установена със софтуер IBM SPSS 19.0 чрез One Way ANOVA тест и Independent sample T test. Коректно проведеана статистическа обработка на експерименталните данни дава възможност за правилни и достоверни изводи от проучванията.

Получени са важни резултати с оригинален характер, с научна и научно-практическа стойност. Ефектите, регистрирани в собствените проучвания, са умело дискутирани, като са подкрепени от досега извесните данни в научната литература. Тъй като основните носители на биологичната активност на екстракта от *Satureja montana*, са розмариновата киселина и карвакролът, д-р Натлия Вилмош се позовава на установените активности на тези биологично активни вещества, за да обясни ефектите на екстракта.

Резултатите са много ясно обобщени в Заключението на дисертационния труд, като ефектите на сухия екстракт на *Satureja montana* са открити в сравнителен аспект спрямо използваните за сравнение розмаринова киселина и карвакрол, както и метамизол (за аналгетичен ефект), и диклофенак (за противовъзпалителен ефект).

На базата на прецизно проведените и описани експерименти са направени 10 извода, които коректно отразяват резултатите от изследванията.

## **7. Приноси и значимост на разработката за науката и практиката**

В резултат на изпълнение на задачите, поставени в дисертационния труд, са получени важни приноси с научно-теоретично значение, а именно за пръв път в България е проведено системно фармакологично проучване на сух екстракт от *Satureja montana*, като са установени важни ефекти: анксиолитичен, антидепресивен, аналгетичен, антиоксидантен и противовъзпалителен. Установена е ефективната доза за проява на тези ефекти. Доказано е, че анксиолитичната и антидепресивна активности на сух екстракт на *Satureja montana* са в корелация с неговия антиоксидантен и противовъзпалителен ефект.

Получени са и приноси с научно-приложна стойност, като е проведено стандартизиране на сух екстракт от *Satureja montana* и определяне на неговата остра и хронична токсичност, което е важна предпоставка за неговото бъдещо безопасно използване на екстракта. Дисертационният труд би подпомогнал бъдещи изследователи в два аспекта: чрез разработения протокол за Вогел теста, както и с получения в експериментите резултат, че серумните концентрации на проинфламаторните цитокини IL-6, IL-1b и TNF-a не са надежден маркер за регистриране на системен противовъзпалителен ефект при модели на остър и хроничен стрес.

Проведените експериментални изследвания с екстракта от *Satureja montana* са предпоставка за провеждане на клинични проучвания и бъдещото му терапевтично използване при хора.

## **8. Преценка на публикациите по дисертационния труд**

Д-р Наталия Вилмош е посочила 3 публикации във връзка с дисертационния труд, 2 от които в реферирани списания, от които едното с импакт фактор. Двете публикации са на английски език. Една от публикациите има обзореен характер и е публикувана на български език в нереферирано списание.

Д-р Вилмош популяризира резултатите от изследванията, включени в дисертацията, чрез 2 участия в престижен международен форум, както и 4 участия в национални форуми.

## **9. Лично участие на докторанта(ката)**

Д-р Вилмош е първи автор на всички публикации и резюмета от участия в научни форуми, което показва нейната голямата лична ангажираност и лична заслуга за проведеното дисертационно изследване, както и за получени резултати, и формулираните приноси.

## **10. Автореферат**

Авторефератът е написан на 73 страници, направен според изискванията и отразява основните резултати, постигнати в дисертацията. Резултатите са добре онагледени с фигури, които заместват табличното представяне на същите данни в дисертацията.

## **11. Критични забележки и препоръки**

Нямам критични бележки. Материалите, предоставени за рецензия, са много добре подредени и своевременно представени.

Препотъката ми е д-р Наталия Вилмош да продължи да използва богатия набор от усвоени фармакологични методи на изследване, които ще ѝ гарантират успешно бъдещо развитие като изследовател и учен.

## **12. Лични впечатления**

Нямам предварителни лични впечатления от д-р Вилмош, но изпълнението на изследванията и представянето на резултатите от тях, както и тяхната интерпретация, показват прецизност, вискателност, организираност и логичност.

## **13. Препоръки за бъдещо използване на дисертационните приноси и резултати**

Препоръчвам на д-р Вилмош да проведе в бъдеще клинични изпитвания с екстракта от *Satureja montana*.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Дисертационният труд съдържа научни и научно-приложни резултати, които представляват оригинален принос в науката и отговарят на всички изисквания на Закона за развитие на академичния състав в Република България (ЗРАСРБ), Правилника за прилагане на ЗРАСРБ и Правилника за академично развитие в МУ – Пловдив. Представените материали и дисертационни резултати напълно съответстват на специфичните изисквания на МУ – Пловдив.

Дисертационният труд показва, че д-р Наталия Вилмош притежава задълбочени теоретични знания и професионални умения по научна специалност Фармакология (вкл. фармакокинетика и химиотерапия). Тя показва голяма лична ангажираност в работата по дисертационния труд, като демонстрира качества и умения за самостоятелно провеждане на научно изследване. Представянето на резултатите и тяхната интерпретация показват прецизност, възискателност, организираност и логичност. Похвално е, че д-р Вилмош е успяла да почерпи максимално от опита на своя научен ръководител – проф. д-р Иванка Костадинова, както и на другите колеги, съвместно с които е извършила научните изследвания. Тя е усвоила изключително голям брой фармакологични методи, което е предпоставка за много успешна бъдеща изследователска работа.

Поради гореизложеното, убедено давам своята **положителна оценка** за проведеното изследване, представено от рецензираните по-горе дисертационен труд, автореферат, постигнати резултати и приноси, и предлагам на почитаемото научно жури да присъди и **научна степен ‘доктор’** на **Наталия Борисова Вилмош** в докторска програма по **Фармакология (вкл. фармакокинетика и химиотерапия)**.

18.11. 2022 г.

Рецензент: .....

Проф. д-р Стефка Вълчева-Кузманова, д.м.н.

Заличено на основание  
Чл.5 §1, б. "В" Регламент (ЕС)2016/679