

РЕЦЕНЗИЯ

на доц. д-р Иван Тодоров Ламбев, дм, външен член за МУ – София,
пенсиониран преподавател > 5 години от АС на МФ при МУ – София

ОТНОСНО представения за защита дисертационен труд на **д-р Людмил Калистратов Лазаров** на тема *"Фармакологични и клинични изследвания върху механизми на предиабет с инсулинова резистентност"* по докторска програма *"Фармакология (вкл. фармакокинетика и химиотерапия)"*, професионално направление *"7.1. Медицина"* и област на висше образование *"7. Здравеопазване и спорт"*.

I. ПРОЦЕДУРНИ ВЪПРОСИ

Д-р Людмил Калистратов Лазаров е асистент и докторант на самостоятелна подготовка в Катедрата по фармакология и токсикология при Медицински факултет на МУ – София. Негови научни ръководители са проф. д-р Надка Бояджиева, дм и дмн от същата Катедра и доц. д-р Емил Гачев, дм, ръководител на Катедрата по клинична фармакология и терапия при Медицински факултет на МУ – София.

Д-р Л. Лазаров е отчислен със заповед на ректора на МУ – София № РК36-1100/06.07.2017 г. с право на защита. Той е положил успешно необходимите изпити. Апробирал е също успешно дисертационния си труд пред разширен съвет в Катедрата по фармакология и токсикология на 30.05.2017 г., което е утвърдено от Факултетния съвет на МФ при МУ с протокол № 13/29.06.2017 г.

Настоящата процедура и представеният комплект материали, свързан с нея, са в пълно съответствие с чл. 4 ал. 2 от Закона за развитие на академичния състав в Република България, чл. 2 ал. 2 от Правилника за прилагане на този Закон, чл. 5 ал. 2 във връзка с чл. 73 ал. 2 от Правилника за условията и реда за придобиване на научни степени и заемане на академични длъжности в Медицински университет – София и заповед № РК36 – 1103/06.07.2017 г. на Ректора на МУ – София проф. д-р В. Златков, дм за назначаване на научно жури за официалната защита.

Докторантът е представил в срок всички необходими документи в принтиран вид, а дисертацията и автореферата – още и в електронна форма. Структурата на рецензирания научен труд и на автореферата са съобразени със законовите изисквания. Нямам съвместни публикации с д-р Лазаров, свързани с дисертационния му труд.

II. ПРОФЕСИОНАЛНО РАЗВИТИЕ И КАЧЕСТВА

Д-р Л. Лазаров е роден в София на 16.06.1965 г. Средното си образование завършва в Столицата в 19 СОУ "Елин Пелин". Висше образование – хуманна медицина завършва във ВМИ – София през 1994 г. През времето от 2006 до 2013 г. е търговски дилър на лекарствени продукти във "Pharmnet" Ltd. От м. декември 2013 г. след редовен конкурсен изпит става асистент по фармакология при Катедрата по фармакология и токсикология към Медицински факултет на МУ – София. От 01.07. 2015 г. със заповед на Ректора специализира фармакология в същата Катедра. Като асистент в последните 3,5 г. д-р Л.

Лазаров има пълна учебна натовареност и води практически упражнения по фармакология със студенти по хуманна и дентална медицина на български и английски език.

Той притежава много добри аналитични, компютърни и комуникативни умения, вкл. работа в екип. Усвоил е редица фармакологични, клинично-лабораторни, фармакогенетични, статистични и други методи и работа със специализирана научно-изследователска апаратура с програмно осигуряване. Владее добре говоримо и писмено английски и руски език, което му позволява да борава бързо и лесно с научна литература. Има сертификат за работа с опитни животни и свидетелство за управление на МПС.

III. НАУКО-МЕТРИЧЕН АНАЛИЗ

Настоящият труд е написан върху 112 стандартни страници формат А4, от които: използвани съкращения – 2 стр., съдържание – 3 стр., въведение – 3 стр., литературен обзор – 36 стр., цел и задачи – 2 стр., материал и методи – 10 стр., резултати – 17 стр., обсъждане – 7 стр., изводи и приноси – 2 стр., литература – 23 стр., публикации и участия в научни форуми – 4 стр., резюме на английски език – 2 стр.

Дисертационният труд е онагледен с 6 таблици и 19 фигури (повечето цветни). Той се чете без затруднения, ясен и аналитичен е. Литературната справка обхваща 208 източника (преобладаващата част през последните 10 г.), от които 6 на кирилица и 202 на латиница. Собствените изследвания, свързани с дисертационната тема, са отразени в 6 статии, отпечатани през последните 3 г. в реферативния журнал *"Обща медицина"* и в сп. *"Лекарска практика"*. В 3 от статиите д-р Л. Лазаров е първи автор и в 2 втори. През последните 3 г. той участва в 3 научни форума у нас и 1 в Швеция с общо 18 доклада, като първи автор е в 4 от тях и втори – също в 4.

IV. АКТУАЛНОСТ НА ПРОБЛЕМА

Дисертационният труд е посветен на взаимосвързани актуални и социално значими медицински проблеми – затлъстяване, предиабет и инсулинова резистентност, чийто механизми са предмет на изследване от фармакологична, клинична и генетична гледна точка от все по-голям брой учени.

V. ЛИТЕРАТУРЕН ОБЗОР

Обзорът обхваща около 32,14% от обема на представения труд. В него се дискутират епидемиологията, рисковите и етиологичните фактори за развитие на затлъстяване, предиабет и захарен диабет (ЗД). Подчертава се ролята на нездравословното хранене, намалената физическа активност, стреса, генетичната предиспозиция, автоимунната деструкция на бета-клетките на панкреаса, различните ендокринопатии, вирусите, атеросклерозата, артериалната хипертония, продължителната терапия с някои лекарства (пентамидин, статини) и др. Отбелязват се късните усложнения на ЗД и основните групи антидиабетични лекарства, обобщено и удачно класифицирани според тяхната фармакодинамика: осигуряващи инсулин, сенсibiliзатори на инсулиновите рецептори, инхибитори на чревната абсорбция на глюкоза.

Специално внимание се отделя на обикновено безсимптоматично протичащия ЗД тип 2 в зряла възраст, който най-често преминава през фаза на предиабет. Отбелязват се възможностите за спиране прогресията на предиабета в ЗД тип 2, които предполагат рационални и волеви промени в начина на живот. Предмет на задълбочен фактологичен анализ са големия брой фактори за развитие на предиабет. Задълбочено се обсъжда патогенезата на затлъстяването (вкл. на клетъчно, нервно-хормонално, генетично и молекулярно ниво), а също възприетите понастоящем механизми за развитие на инсулинова резистентност.

Подробно се анализират и дискутират данни от последните 5 г., хвърлящи светлина на предполагаемата връзка на човешкият микробиом с различни патологични състояния като например метаболитен синдром, затлъстяване, ЗД. Подчертава се, че затлъстяването е свързано с промяна в състава на чревната микрофлора, насочена към по-ефективно използване и складиране на получената с храната енергия. *Установяването на различия в състава на чревната микрофлора може да послужи като предиктор в ранната диагностика на процесите, свързани с развитие на ЗД тип 2 при високорискови пациенти.* Продукти от микробния чревен метаболизъм, като например късоверижната бутирова мастна киселина, могат да имат благоприятни метаболитни ефекти чрез повишаване на митохондриалната активност, превенция на метаболитната ендотоксемия и активиране на чревната глюконеогенеза посредством влияние върху генната експресия и хормоналната регулация.

Съществуват доказателства за връзка между намалените плазмени нива на тестостерон, ЗД тип 2 и инсулиновата резистентност. Ниските нива на тестостерон предхождат повишаването на стойностите на глюкоза, инсулин и HbA_{1c} и могат да бъдат използвани като биомаркер, подсказващ развитие на ЗД тип 2. Андроген-субституиращата терапия у хипогонадни мъже подобрява инсулиновата чувствителност, гликемията на гладно и нивата HbA_{1c}. Дискутира се също все още неизяснената връзка между мелатонина, регулиращ циркадианните биоритми и инсулиновата резистентност.

VI. ЦЕЛ И ЗАДАЧИ

В литературния обзор д-р *Л. Лазаров* компетентно обосновава актуалността и важността на своя дисертационен труд като извежда неговата основна цел, която точно и конкретно формулира: *Да се проучат механизми на предиабет чрез експериментални и клинични изследвания.* Тази цел е насочена към изпълнение на няколко основни задачи:

- проучване влиянието на пробиотици Елбивит върху въглехидратната и мастната обмяна при експериментални модели на инсулинова резистентност на мъжки плъхове.
- проучване влиянието на епифизния хормон мелатонин и фитопрепарата Tribestan (екстракт от *Tribulus terrestris L.*) върху въглехидратната обмяна при модели на инсулинова резистентност и предиабет на плъхове;
- изследване влиянието на пробиотици Елбивит, приеман в съчетание с нискокалорийна диета от възрастни доброволци от двата пола с предиабет и затлъстяване, участници в проекта NIRDIABO, върху разпределението на мазнини в организма, въглехидратната и мастната обмяна, HOMA индекса и серумните нива на цитокините TNF-alpha и IL-1beta;
- изследване на основни генетични параметри на същите доброволци чрез определяне на три гена, имащи връзка със затлъстяване и предиабет.

VII. МАТЕРИАЛ И МЕТОДИ

Експериментално фармакологичните изследвания са проведени върху 54 бели мъжки полово зрели плъха линия Wistar на възраст 3 месеца. Животните са разпределени от 6 до 9 в група при свободен достъп до вода. Опитите са продължили > 45 дни. Клиничната част от настоящия дисертационен труд е свързана с проекта NIRDIABO върху 220 доброволци-участници, със затлъстяване и предиабет на възраст от 25 до 70 г. (179 жени и 41 мъже) от София град, Пловдивска и Плевенска област. Изследването е продължило два месеца. *Спазени са етичните правила за работа както с хора, така и с опитни животни.*

Даден е съставът на използваните фармакологични и нефармакологични средства и техните производители. Кратко и ясно са описани използваните експериментални модели на затлъстяване при плъхове, подложени на висококалорична диета, и модел на инсулинова резистентност, предизвикан с продължително третиране с фруктоза.

Описани са методите за изследване на клинично-лабораторните показатели на основния метаболизъм, въглехидратната и мастната обмяна, ELISA методите за определяне на TNF-alpha и IL-1beta, редица методи за оценка на затлъстяване и предиабет, генетични и биостатистични методи.

VIII. РЕЗУЛТАТИ, АНАЛИЗ И ОБСЪЖДАНЕ

Получените при експериментите резултати са коректно представени и онагледени. На повечето фигури и таблици са показани стандартната грешка и отклонение. При анализа и тяхното обсъждане дисертантът сравнява и съпоставя рационално своите резултати с тези на редица водещи чуждестранни изследователи. Основната експериментална и писмена дейност по осъществяване на дисертационния труд е извършена самостоятелно от д-р Л. Лазаров.

Резултатите показват, че плъховете, третирани с фруктоза в продължение на 60 дни увеличават сигнификантно теглото си и развиват инсулинова резистентност. Хроничното им третиране с пробиотика Елбивит или с мелатонин намалява значимо тяхната телесна маса. Това би могло да се обясни с допускането, че този епифизен хормон, регулиращ циркадианните биоритми, повлиява също хипоталамичните механизми на регулация на апетита и съответно води до намаляване на телесната маса. Хроничното въвеждане на Трибестан след 45-дневно третиране с фруктоза не води до статистически значимо намаляване на теглото в сравнение с контролната група. Резултатите от настоящите изследвания показват, че експерименталното затлъстяване, предизвикано с продължително хранене с фруктоза, може да доведе до нарушаване на въглехидратната обмяна, вкл. и промяна в чувствителността на инсулиновите рецептори.

При изследванията върху доброволци – мъже и жени с предиабет и затлъстяване е документирано, че ежедневното прилагане на комбинацията от ниско калорична диета с пробиотика Елбивит в продължение на два месеца подобрява общото състояние при двата пола. По-изразено се намалява теглото и НОМА индекса при жени, а BMI се понижава при двата пола. Посочените ефекти корелират с намаляване процента на мазнините в организма при изследваните мъже и жени. По-изразено намалява обиколката на талията при мъжете. Установено е намаление на провъзпалителните цитокини в серума на жени и мъже, което е също по-изразено при мъжете.

Ниско калоричната диета потенцира благоприятните ефекти на пробиотика Елбевит върху организма и отслабва риска от натрупване на мазнини у индивиди с предиабет и затлъстяване. Анализът на клинично-лабораторните данни показва, че посочената комбинация от ниско калорична диета и пробиотик намалява риска от развитие на анемия и увреждане на бъбреците.

Изказва се хипотезата, че използването на подходящ пробиотик може да подобри микробиома, като противодейства на патогенната микрофлора и по този начин ще отслаби риска от увреждане на бета-клетките на панкреаса. Резултатите от настоящите проучвания документират ефективност на изследваната комбинация от ниско калориен хранителен режим и пробиотик с подобряване на антропометричните и клинично-лабораторни показатели.

Установени са различия при някои от измерените показатели при мъже и жени спрямо ниско калоричния режим, съчетан с прием на пробиотик. НОМА индексът се повлиява по-значимо при жените в сравнение с този при мъжете. Разпределението на мазнините в организма също се повлиява по-значимо при жените, отколкото при мъжете. Обратно, теллото при мъжете се повлиява по-бързо и по-значимо в сравнение с жените. В подкрепа на *половите различия* са намерените по-значими концентрации на провъзпалителни цитокини TNF alfa и IL-beta при жените в сравнение с мъжете.

Анализът на НОМА индекса, степента на затлъстяване и резултатите от генетичните изследвания на участниците в проекта NIRDIABO показват несъмнената роля на индивидуалния геном в техния клиничен отговор спрямо двумесечния ниско калоричен хранителен режим и приемането на пробиотик. *За първи път се документират факти от генома на участниците с промени на гени, отговорни, както за предиабет, така и за затлъстяване.* Анализът на отделните генетични типове и намерените геномни промени при част от участниците обяснява защо именно те се повлияват по-значимо от хранителния режим с пробиотик, а другите отговарят по-слабо на двумесечното третиране.

IX. ИЗВОДИ И ПРИНОСИ

Изводите и приносите са формулирани ясно и обобщават точно постигнатите резултати, повечето от които носят оригинален характер. Приносите имат експериментално-фармакологичен и клинично-фармакологичен характер.

X. АВТОРЕФЕРАТ

Както по съдържание, така също и по своето оформление авторефератът отговаря на изискванията и отразява същността на дисертационния труд. Неговият обем е 49 стр. Онагледен е с 5 таблици и 11 фигури. Авторефератът отразява методологията, получените резултати, обсъждането, изводите и приносите. Негов плюс е фактът, че завършва с информативно *резюме на английски език.*

XI. КРИТИЧНИ БЕЛЕЖКИ И ПРЕПОРЪКИ

При апробиране на настоящия дисертационен труд като рецензент направих критични бележки и препоръки, отнасящи се до следното: оформяне на отделна страница

"Използвани съкращения"; извеждане в съдържанието на определени заглавия, посочване на производителите, респ. притежателите на разрешението за употреба на използваните лекарствени и други фармацевтични продукти; включване на химическата структура на метформина и мелатонина и на фигура на *Tribulus terrestris* L.; таблици за оценка на здравния риск в зависимост от BMI и обиколката на талията, редактиране на някои от изводите, оформяне на резюме на английски език и др.

С удоволетворение констатирам, че повечето от критичните бележки и препоръки са взети под внимание, въпреки че те имат предимно формален, отколкото съдържателен характер и с нищо не намаляват научната стойност, приноси и достоинства на дисертационния труд.

XII. ЛИЧНИ ВПЕЧАТЛЕНИЯ

Познавам д-р Л. Лазаров от края на 2013 г. През това време той показва неотслабваща прецизност, колегиалност и висока отговорност в учебната и научно-изследователската дейност. *Интегрира се пълноценно в Катедрата*. Затова се ползва с напълно заслужено доверие от преподаватели и студенти.

XIII. ЗАКЛЮЧЕНИЕ

(1) Темата на научния труд е значима и актуална. Целта е формулирана точно, а задачите са адекватно подбрани. Резултатите са коректно описани, анализирани и дискутирани. Изводите са ясно формулирани. Приносите имат експериментално-фармакологичен и клинично-фармакологичен характер.

(2) Основната част от проведените изследвания и писмената теза са собствена разработка на д-р Л. Лазаров.

(3) Представеният за рецензия дисертационен труд на **д-р Людмил Калистратов Лазаров** "*Фармакологични и клинични изследвания върху механизми на предиабет с инсулинова резистентност*" покрива напълно качествените и количествените критерии на ЗРАС за придобиване на научната и образователната степен „**Доктор**” в област на висше образование „7. Здравеопазване и спорт”, професионално направление „7.1. Медицина” и научна специалност „Фармакология (вкл. фармакокинетика и химиотерапия)”.

(4) Поради гореизложеното, убедено давам своята **положителна оценка** на проведеното експериментално-фармакологично и клинично фармакологично изследване, представено в настоящия дисертационен труд и в автореферата към него и *предлагам* на почитаемото научно жури да присъди на докторанта научно-образователна степен „**Доктор**”.

София, 08.08.2017 г.

Рецензент:

(Доц. д-р Ив. Ламбев, дм)