

СТАНОВИЩЕ

От проф. д-р Яна Чекаларова

Ръководител на направление „Поведенческа невробиология“ – Институт по
невробиология, БАН

Относно дисертационен труд на Цвета Димитрова Стоянова на тема „Биологична активност на производни на дитиокарбоновата киселина /ксантогенати/“, насочен за публична защита за присъждане на образователната и научна степен „Доктор“ в Професионално направление 7.1. Медицина по научна специалност „Фармакология /вкл. фармакокинетика и физиотерапия/ с научен ръководител доц. Албена Александрова и научен консултант: д-р Станислав Янев.

Общо представяне на процедурата и докторанта

Цвета Стоянова е зачислена като редовен докторант на 05.02.2014 г. със Заповед на Директора на ИНБ, БАН № 110. След представяне пред Институтски колегиум е отчислена с право на защита със Заповед № 9 от 11.01.2018 г., а по-късно след представяне на цялостната работа и оформен дисертационен труд на Институтски колегиум е взето решение за насочването ѝ към официална защита. Предзащита е проведена със заповед № 633 от 28.08.2019 г. След гласуване на НС на НЖ с протокол № 6 от 24.10.2019 г. бях определена за представяне на становище на докторантския труд.

При изготвяне на настоящата рецензия са спазвани изискванията на ЗРАСРБ и Правилника за неговото приложение, а също и специфичните Критерии за заемане на академични длъжности и придобиване на научни степени в ИНБ-БАН.

Не съм открила пропуски в процедурата за открита защита и приложената от ас. Цвета Димитрова Стоянова документация.

Представените материали по защитата съответстват напълно на законовите процедурни изисквания.

Декларирам, че нямам общи публикации по дисертационния труд с докторантката.

Актуалност на дисертационния труд

Дисертационният труд третира значим и интензивно изследван в бившата Лаборатория по лекарствена токсикология към ИНБ научен проблем свързан с проучване на нови биологични свойства на представители на дитиокарбоновите киселини – ксантогенати, наричани още ксантати. Темата безспорно е актуална, защото тиоловите съединения, вкл. ксантогенатите проявяват висока биологична активност и намират широко приложение в много сфери на живота, вкл. в промишлеността, селското стопанство, аналитичната химия и най-вече в медицинската практика като лекарствени агенти. В литературата липсват конкретни данни за участието на реактивните форми на кислорода в метаболизма на ксантогенатите до реактивни метаболити, вкл. за конкретната връзка между ксантогенатите и оксидо-редуктазните ензими (монооксигенази и пероксидази), в чиито механизми на каталитично действие участват междинни комплекси с кислорода, аналогични на тези при системата на цитохром 450 (CYP450). Изследванията застъпени в дисертацията имат **научна значимост** свързана с проучване и изясняване участието на три оксидоредуктазни ензима – CYP450, флавинова монооксигеназа и пероксидаза от хрян в метаболизма на ксантогенатите. Тези ензими имат ключова роля в метаболизма на ксенобиотиците (CYP450 и FMO) и в този смисъл изясняване на определени механизми в тяхното действие с настоящия труд би имало и **приложно значение** за терапевтично приложение на ксантогенатите. В тази насока, намирам за особено ценна находка в дисертационния труд представените няколко химични моделни системи с генерирани реактивни форми на кислорода (ROS), чрез които се изясняват различията в метаболизма на ксантогенатите при конкретните експериментални условия, а от друга страна, получените резултати допринасят за установяване на някои различия в механизмите на активиране на кислорода при трите оксидоредуктазни ензими.

Структурата на дисертационния труд е съобразена с общоприетите съотношения между отделните раздели. Той съдържа 139 стандартни машинописни страници, от които въведение – 2 стр., литературен обзор – 32 стр., цел и задачи – 1 стр., материали и методи – 8 стр., експериментални постановки и резултати – 53 стр., обща дискусия – 19 стр., 6 извода и 4 приноса, библиография от 234 заглавия.

Целта на дисертационния труд следва логично от направеното въведение, а именно да се изследва *in vitro* взаимодействието и метаболизма на ксантогенатите от биологични (монооксигеназни и пероксидазни ензими) и химични моделни системи, генериращи различни реактивни форми на кислорода за изясняване на механизма на

антиоксидантното им действие. Произтичащите от целта основни задачи са адекватни за изпълнение на набелязаната цел и са общо пет.

Литературният обзор разкрива уменията на докторанта да съпоставя и анализира данните така, че да покаже убедително необходимостта от планираните от нея проучвания, да навлезе в същността на важен за практиката проблем и да приложи научен подход при неговото експериментално изучаване. Анализирането на информацията от актуални литературни източници позволява на докторанта да опише постигнатото от други автори и да набележи нерешени проблеми. Той е структуриран в няколко основни раздела и е онагледен с 45 фигури и 13 таблици. Направено е целенасочено представяне по проблема, като обзора е основно разделен на две части, в които са разгледани 1/ синтез, физични и химични свойства на ксантогенатите, и 2/ метаболизъм на ксенобиотиците, вкл. основни метаболизиращи системи и метаболизъм на ксантогенатите. Литературният обзор е написан компетентно, включени са конкретни научни трудове свързани с темата на дисертационния труд, в частност е направен обобщен анализ на основните етапи на активиране на кислорода от ензимите на CYP P450, структурните характеристики и каталитичен цикъл на флавинмоноксигеназната система, пероксидазните ензимни системи и пероксидазата от хрян. Във връзка с основната цел на дисертацията, детайлно е описан метаболизма на ксантогенатите, вкл. от различни пречистени изоформи на CYP450 както и участието на активните форми на кислород, което е отлично постижение на автора, и показва че познава много добре научната литература и проблемите свързани с темата.

Експериментални методи. При изпълнението на задачите, които си поставя Цвета Стоянова в дисертационния труд са използвани добре подбрани, адекватни, информативни и взаимно допълващи се **методи** и експериментални модели. Изследвани са достатъчно голям брой ксантогенати /общо 19/ и ензими /общо 5/, за да бъдат получени надеждни резултати необходими за доказване на работната хипотеза. Отделни методични подходи са схематично онагледени и значително улесняват възприемането на материала. За статистическата обработка на резултатите са използвани адекватни подходи, а именно регресионен и вариационен анализ и t-тест. Не е отбелязано конкретно дали АНОВА метода е едно- или многофакторен, макар че при запознаване с резултатите това може да се предположи. Напълно подкрепям използвания в дисертацията подход за представяне на част от експерименталните процедури към раздел „Резултати“ с идея за по-голяма яснота и осмисляне на представените данни.

Резултатите са обобщени в 5 части, всеки от които е придружен от кратка дискусия и анализ на данните. В първа, втора и трета част са представени *in vitro* изследвания фокусирани върху взаимодействието на ксантогенатите с ензимни и неензимни системи образувачи супероксиден радикал (O_2^-) /първа част/, с ензимни и неензимни системи, използващи водороден пероксид /втора част/ и с неензимни системи генериращи хидроксиден радикал /трета част/, съответно. В четвърта и пета част се описват резултати от експериментални постановки целящи изясняване на механизма на антиоксидантното действие на ксантогенатите. Резултатите са онагледени с 13 таблици и 45 фигури, които отговарят на съвременните научни стандарти. Въпреки, че са значителни по обем, те се възприемат с лекота, поради направения анализ и кратко обсъждане след всеки експеримент. Обсъждането на резултатите представя докторантката като ерудиран учен.

Като резултат от прецизното изпълнение на експерименталните задачи за реализиране на поставената цел и тяхната обобщена дискусия са формулирани общо **6 извода**, на базата, на които логично са изведени 4 приноса. Тези приноси в обобщен вид представят най-съществените постижения на труда свързани с изясняване на механизма на действие на ксантогенатите върху различни биологични системи, включително антивирусното, антибактериалното и антиоксидантно действие на ксантогенатите. Съгласна съм с формулираните приноси, които предполагам имат не само важно теоретично значение свързано с изясняване на метаболизма на ксантогенатите, но биха представлявали интерес и за медицинската практика за тяхната приложимост при определени заболявания.

Преценка на публикациите по дисертационния труд

Представените публикации отразяват най-важните резултати от дисертационния труд.

Цвета Стоянова е представила доказателствен материал в 3 статии, в две от които тя е водещ автор. Трябва да отбележа, че две от публикациите са в много престижни списания с висок импакт фактор /над 4/, като едната от тях е във *Frontiers Pharmacology*, което също е потвърждение за значимостта на дисертационния труд. Разпространението на резултатите е намерило отражение също така и чрез представянето им в общо 9 конгреси или конференции. Сборът от точки от участие в тези публикации е общо 42, с което са надхвърлени минималните законови изисквания

за присъждане на научна и образователна степен „доктор“ от 30 точки по група от показатели „Г“ от 30 точки.

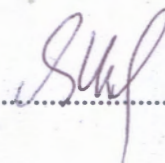
Забелязано е само едно цитиране от тази година, което е свързано с публикуване на материалите през последните две години.

Авторефератът отразява коректно същността на дисертационния труд.

Забележките ми по дисертационния труд са най-вече от технически характер и не намаляват значимостта на работата. Няма изрично изискване как да бъдат представяни фигурите в дисертационните трудове, но има негласно правило да бъдат описвани на български език. При представяне в дисертацията на публикациите по темата, след всяка една от тях, дисертантката неточно е дала броят на точки, без да има в предвид, че общия брой точки за статия в реферирано издание се дели на броя на авторите.

Заключение: Извършено е голямо по обем, добре планирано, много трудоемко и прецизно изпълнено изследване с подходящо подбрани и адекватни методи и постановки. Получените данни са адекватно анализирани и обобщени в изводи. Приносите на изследванията по темата обогатяват знанията за метаболизма на ксантогенатите, както и механизма им на действие свързан с противовирусно, бактерицидно и антиоксидантно действие. Приложния характер на работата е свързан с направената заявка за бъдещо използване на ксантогенатите като адювант при една комплексна терапия за лечение на социално-значими заболявания. Докторантът показва, че е усвоил значим брой биохимични изследователски методики и техники, които са адекватно използвани за реализиране на поставените научни задачи. Считам, че представения материал отговаря на изискванията за защита на дисертационен труд за присъждане на образователна и научна степен “Доктор”. Поради това давам своята положителна оценка и предлагам на уважаемото научно жури да присъди образователната и научна степен “Доктор” по научна специалност “Фармакология” на докторант Цвета Стоянова.

16. 10. 2019 г.



.....

Проф. д-р Яна Чекаларова