

## РЕЦЕНЗИЯ

На дисертационен труд на тема:

***„Влияние на ноцицептин и неговите структурни аналози върху клетъчния антиоксидантен статус“***

представен за придобиване на образователната и научна степен „ДОКТОР“

по научна специалност „Фармакология“, шифър 03.01.24

с автор **гл. асистент Елина Руменова Цветанова**

**РЕЦЕНЗЕНТ:** доц. Милка Милева, дф

Департамент по вирусология, Институт по микробиология „Стефан Ангелов“

Българска Академия на Науките, тел. +359 979 3117;

e-mail; [milkamileva@gmail.com](mailto:milkamileva@gmail.com)

Рецензията е изготвена въз основа на Заповед № 287/17.07.14 на директора на Институт по невробиология – Българска Академия на Науките

Елина Руменова Цветанова е родена на 09.08.1976 в гр. Монтана, където през 1994 г. завършва Гимназия с преподаване на чужди езици. През 1999 придобива образователна степен магистър по специалност „Лечебни растения“ в Биологическия факултет на СУ „Св. Климент Охридски“. През 1999 г. постъпва в Институт по физиология – БАН като специалист. През 2006 спечелва конкурс за научен сътрудник III ст. в Институт по невробиология, а през 2008 е повишена в главен асистент.

**ДИСЕРТАЦИОННИЯТ ТРУД** е посветен на изследване на антиоксидантния капацитет на невропептида ноцицептин и някои негови структурни аналози в прооксидантни условия *in vivo* и *in vitro*. Така докторантката продължава богатата традиция на проблемната група “Биологични ефекти на природни и синтетични вещества” в областта на оксидативния стрес и методите на неговото повлияване

Ноцицептин е ендогенен невропептид от централната и периферна нервна система, модулатор на основни физиологични възприятия, съпътстващи

ни ежедневно - болка, страх, безпокойство, глад, двигателна активност, функциите на гастроинтестиналната, отделителната, дихателната, сърдечно-съдовата и имунната системи.

В научната литература се дискутира модулиращият ефект на ноцицептин при патологични състояния, свързани с повишена продукция на активни форми на кислорода, което логично поставя въпроса дали биологичната му активност се дължи на повлияване на антиоксидантния статус на клетките. В този аспект считам, че дисертационният труд на гл. ас. Цветанова е актуален и полезен и допринася за допълване характеристиките и биологичното действие на ноцицептин и новосинтезираните му аналози.

Оригинален и логичен е подходът на изучаване на модифицирани ноцицептинови аналози, проявяващи по-добра устойчивост при протииолитично разграждане и по-висока селективност към ноцицептиновите рецептори, при които на позиция 9 лизинът е заместен съответно с орнитин, диаминопропанова киселина, диаминобутанова киселина и канаванин, като се търси връзката молекулен дизайн – биологична активност.

**ДИСЕРТАЦИЯТА** е написана на 128 стандартни страници, съдържа 24 фигури, 13 схеми и 9 таблици. Библиографията обхваща 277 литературни източника, всичките на латиница.

Трудът е структуриран съобразно изискванията и включва: Въведение – 2 стр.; Литературен обзор – 33 стр.; Цели и задачи – 1 стр., Материали и методи - 12 стр.; Резултати – 27 стр.; Обсъждане – 12 стр.; Изводи – 1 стр., Справка за приносите на дисертационния труд – 1 стр.; Приложения – 4 стр.; Литература – 27 стр.

**ЛИТЕРАТУРНИЯТ ОБЗОР** започва с модерната в края на миналия век теория за оксидативния стрес и т. нар. свободно-радикалови болести, свързани с нарушена микроциркулация, мутагенеза и карциногенеза, възпаление и невродегенерация. В последните десетина години тази теория се обогати и доразви в посока, доказваща, че активните форми на кислорода са важен елемент от клетъчния редокс-статус и редокс-сигнализация, те са и сигнални молекули, и медиатори на защитния отговор и не би следвало да се разглеждат

само като увреждащ фактор. Във втората част на литературния обзор тази теза е задълбочено дискутирана, което поражда очаквания за изследване на молекулните механизми като например протективни ензими и транскрипционни фактори, регулиращи възпалението и антиоксидантната защита и тяхното повлияване от ноцицептин и новосинтезираните аналози.

Така поднесен, прегледът на литературата не дава отговор на следните въпроси, свързани с експерименталния дизайн:

1. Какви са конкретните съображения за подбора на експерименталните модели – каинов и карагенанов и на какви конкретни въпроси ще отговорят те в хода на изследването?
2. По кои критериите в настоящата работа ще се съди, че избраните експериментални модели *in vivo* работят?

**ЦЕЛИТЕ И ЗАДАЧИТЕ** на работата са добре формулирани, но би могло да се дефинира по-детайлно понятието патология.

**ЕКСПЕРИМЕНТАЛНИЯТ МАТЕРИАЛ** включва мъжки бели плъхове, порода "Wistar", със средно тегло 160 – 200 г., групирани според целите на изследването. Всички опити са проведени съобразно изискванията за работа с експериментални животни и са в съответствие с директивите на Европейския съюз – одобрение от Етичната комисия на Института по невробиология на БАН, съгласно "Правилник за отглеждане и експериментална работа с лабораторни животни".

Използвани са различни биологични, препаративни и биохимични методи, доста детайлно и подробно описани. Изследвани са голям брой информативни показатели: определяне на белтък, на хемоглобин, тотален глутатион, ТБК тест в хомогенати от мозък, черен дроб и тъкан от лапа, прекисно окисление на липиди в кръв, ензимни активности на супероксиддисмутаза, каталаза, глутатион пероксидаза, глутатион редуктаза, глюкозо-6-фосфат дехидрогеназа, продукция на хидроксидни и супероксидни радикали.

**РЕЗУЛТАТИТЕ** са систематизирани в седем отделни направления, които съдържат директни и индиректни доказателства за изпълнението на задачите и

предложените хипотези. Установено е, че ноцицептин не повлиява клетъчния антиоксидантен статус нито при нормално, нито при повишено генериране на АФК в клетките. Нещо повече, скъсяването на страничната верига на ноцицептин с две или три метиленови групи в позиция 9, води до проява на прооксидантни свойства. Тези данни са уникални и показват, че не винаги противовъзпалителните средства овладяват оксидативните процеси.

**Обсъждането** на резултатите съдържа някои неизбежни повторения от обзора и методологията, в стремежа си да покаже информираност и познаване на литературата, докторантката е дискутирала получените резултати повече на ширина, отколкото в дълбочина. Не трябва да се пренебрегва и фактът, че за да се анализират и обсъдят експериментални резултати при отсъствие на търсените ефекти, изисква добра теоритична подготовка и не на последно място, голяма доза смелост.

**Изводите**, 5 на брой, са направени доста обобщено и предпазливо и не акцентират достатъчно върху връзката между субституцията на позиция 9 на лизин с орнитин, диаминопропанова киселина, диаминобутанова киселина и канаванин – с антиоксидантната активност на новосинтезираните аналози.

Този анализ е направен в раздела **Приноси** на дисертационния труд. Безспорно е, че това са и приносите на дисертационния труд, а сравнителната оценка е заложена в т. 5 от раздела **Задачи**. Моята препоръка е принос 3 да се доразвие и да бъде като извод 6.

**Авторефератът** (36 стр.) съдържа всички основни данни на дисертацията, добре е онагледен и дава добра представа за извършената работа.

#### **ОЦЕНКА НА КРИТЕРИИТЕ В СЪОТВЕТСТВИЕ СЪС ЗРАСРБ И ПРАВИЛНИК ЗА ОБУЧЕНИЕ НА ДОКТОРАНТИ НА ИНБ – БАН.**

По настоящата процедура за защита на дисертационния труд за присъждане на образователната и научна степен „доктор“, гл. асистент Цветанова е покрила всички критерии в съответствие със ЗРАСРБ и Правилник за обучение на докторанти на ИНБ – БАН. По точка I от правилника -

образователната програма ,от необходим минимум от 130 точки гл. асистент Цветанова има 150; По точка II (участие в научни мероприятия), при необходим минимум от 40 точки, тя има 48 (2 доклада в научни мероприятия в страната); по точка III, касаеща публикационната активност, при необходим минимум от 80 точки, тя е събрала 240.

Резултатите от дисертационния труд са отразени в 4 научни статии с общ импакт фактор 4.325. В две от приложените публикации докторантката е първи автор. Забелязани са 4 цитирания, с общ импакт фактор 7.398.

### **ЗАКЛЮЧЕНИЕ:**

Представеният ми за рецензия дисертационен труд представлява интересно и оригинално изследване на активностите на ноцицептин и неговите синтетични аналози с акцент върху повлияване на оксидативния стрес. Като всяка дисертация и тази има някои слабости. Антиоксидантни ефекти не са наблюдавани, но само при подбраните няколко експериментални модели. По-мощно изследване, с други опитни постановки и методики, би внесло допълнителна яснота.

Процедурата отговаря напълно на изискванията на Закона за развитието на академичния състав в Република България и Правилник за обучение на докторанти на ИНБ – БАН, достатъчната научна продуктивност на докторантката ми дават основание да препоръчам на почитаемите членове на Научното жури да присъдят на гл. асистент Елина Руменова Цветанова образователната и научна степен "Доктор".

01.10.2014 г.

София

  
/Доц. Милка Милева, дф/