

## РЕЦЕНЗИЯ

на дисертационния труд на редовен докторант към Катедра Аналитична химия, ФХФ-СУ

Силвия Стоянова Стойкова

за присъждане на образователната и научна степен „доктор”

по професионално направление 4.2. Химически науки (Аналитична химия)

Тема на дисертационния труд:

*„Изследване на психоактивни вещества в орална течност за целите на съдебната токсикология”*

Рецензент: проф. дхн Соня Арпаджян-Ганева, Катедра Аналитична химия,

Факултет по Химия и Фармация, СУ „Св. Климент Охридски”

Търсенето на алтернативни или допълнителни на кръв/урина биологични матрици е винаги актуална и изключително важна задача. Представеният ми за рецензия дисертационен труд цели охарактеризиране на оралната течност и изясняване на възможностите за изследване на психоактивни вещества в тази биологична проба. Надеждното доказване на наличието или отсъствието на чужди за организма токсични съединения е от съществено значение за диагностиката, лечението и справедливостта на съдебни процеси. За постигане на поставената цел от дисертантката последователно и методично са изпълнени следните задачи:

1. Охарактеризиране на орална течност като биологична матрица чрез изследване на проби, предоставени от млади, здрави доброволци (30–жени; 31–мъже)
  - 1.1. Направен е електрофоретичен профил и са доказани две основни групи протеини: първата е с молекулна маса между 52 и 72 kDa, а втората група са протеини с ниска молекулна маса около 10 kDa.
  - 1.2. Определени са референтните стойности и референтния интервал на седем биохимични параметри. След обстоен анализ на получените стойности като критерий/маркер за оценка на идентичност е избран ензимът  $\alpha$ -амилаза поради своята специфичност (храносмилателен ензим, произвеждан главно от слюнчени жлези). Като индикатор за разреждане/концентриране на

пробата, който да се прилага за нормализиране на количествени резултати, е избран креатинин (краен метаболитен продукт на креатин и креатин фосфат).

1.3. Направена е оценка на стабилността на орална течност в зависимост от времето (веднага след пробовземане, 24 часа, една седмица, две седмици и един месец след пробовземане) и условията на съхранение (+4 °C, -20 °C, със и без добавка на стабилизатори).

2. Провеждане на сравнителен анализ за психоактивни вещества в проби от кръв и от орална течност от водачи на МПС. Дисертантката разглежда два аспекта на проучването:

2.1. Сравнение между резултатите, получени от лабораторния анализ в кръв от шофьорите с тези, получени при имуноаналитичния скрининг в орална течност. Сравнителният анализ на достатъчен брой изследвани лица показва добра корелация между двете тествани проби, което означава, че оралната течност може да се използва като алтернативна на кръвта матрица при доказване на употреба на забранени субстанции от водачи на МПС.

2.2. Сравнение между резултатите, получени от имуноаналитичния тест „на пътя“ на проби орална течност с техническо средство с тези, получени от лабораторен анализ на извадени от техническото средство тест-ленти. Лабораторният анализ на изследваните 50 тест-ленти потвърждава 50% от предварителното имуноаналитично изследване. Дадените от докторантката обяснения относно причините за несъответствието в останалите 50% са логични и достоверни. Този факт стимулира търсенето на алтернативи за полево пробовземане.

3. Идентификация на психоактивни вещества в орална течност и в „сухи петна“ от орална течност

3.1. Оптимизиране на процедурата за скрининг-анализ на орална течност за психоактивни вещества. Процедурата включва:

- Оптимизация на пробоподготовката – обезбелтъчващ агент, екстрагент и киселинност на средата

- Оптимизиране параметрите на инструменталния анализ чрез GC-MS метод
- Оптимизиране процедурата на калибриране с вътрешен стандарт

### 3.2. Скрининг-анализ на сухи петна от „орална течност” за психоактивни вещества

В дисертационния труд се предлага и изследва една алтернатива на класическото пробовземане по аналогия с процедура, известна като „сухо кръвно петно”. Като сорбент е използвана четирипластова филтърна хартийка. Усилията при този начин на пробовземане логично са били насочени към оптимизиране на условията за извличане на психоактивните вещества от твърдия носител. Получените достатъчно високи аналитични добиви дават основание на докторантката да направи извода, че чрез директен анализ на „сухо петно” е възможно едновременното идентифициране и откриване на различни психоактивни вещества.

3.3. Направена е оценка на приложимостта на разработените процедури за анализ на психоактивни вещества в орална течност и в „сухо петно” от орална течност в токсикологичната практика. Оценката е извършена на база анализ на проби от пациенти-доброволци, приети за лечение в клиника „Спешна токсикология” към ВМА-София. Проведените изследвания са „ин-виво” вариант на метода „внесено-намерено” за контрол на точността и надеждността на аналитична процедура. Мисля, че този начин на контрол на достоверността на резултатите конкретно при анализ на биологични проби е по-добър и по-реален.

4. Сравнителен анализ на резултати, получени при скрининг на психоактивни вещества в урина и орална течност. Ясно и точно в дисертационния труд са дефинирани ограниченията на това сравнение поради разликата във фармакокинетичните профили на двете матрици.

5. Разработване на процедури за количествено определяне на психоактивни вещества в орална течност. Постигнатите аналитични характеристики

отговарят на изискванията за съдебно-токсикологично изследване и доказване/отричане на скорошна употреба на психотропни субстанции.

Дисертационният труд е оформен на 93 страници, като експерименталната част включва 13 фигури и 7 таблици. Цитирани са 138 литературни източника. Използваните методики са описани в четири приложения.

Научните приноси на кандидата са обобщени много добре в дисертационния труд и може да се охарактеризират като:

*Новости за науката:*

- Предложените за първи път маркери/критерии/индикатори за идентичност и разреждане/концентриране на проба орална течност.
- За първи път е разработена и детайлно изследвана приложимостта на техниката „сухо петно” за проби от орална течност.

*Обогатяване на съществуващите знания:*

- Оралната течност е охарактеризирана като биологична матрица.
- Установена е стабилността на оралната течност при различни условия на съхранение.
- Оптимизирани са процедури за количествено определяне на психоактивни вещества в орална течност.
- Уточнени са възможностите на тест-ленти от технически средства за имуноанализ на орална течност.

Към дисертантката имам следните въпроси за обсъждане и дискусия:

- Възможно ли е чрез използване на ултразвук да се повиши екстрахируемостта на изследваните психоактивни вещества от орална течност или от „сухо петно”?
- Би ли се отразил типът на използваната филтърна хартия (плътност, размер на порите, скорост на пропускане/задържане) за техниката „сухо петно”?

Дисертантката е овладяла теорията и практиката на аналитично охарактеризиране на биологични проби. Получените резултати са публикувани в престижните специализирани списания „*Toxicologie Analytique & Clinique*”(2015) и

„Analytical Letters”(2016). Интересен обзор „Имуноаналитични техники” е представен в „Българско списание за химия”(2014). Резултатите от сравнителните и потвърдителни анализи на кръв и орална течност от водачи на МПС са публикувани в специализираното списание „MD-Medical data”(2016). Изключително активно е участието на докторантката в 4 национални и международни конференции с общо 6 постерни и устни доклади през 2014-2015г. Стойкова е първи автор в четирите публикации и в пет от конференнтните доклади, което е признание от научния ръководител и колектив за нейната всеотдайност, самостоятелност, активност, ангажираност, работохолизъм, което мога да потвърдя и от личните си впечатления от докторантката. Силвия работи като кръжочник при научния си ръководител от втори курс на следването си, благодарение на което е натрупала завиден за годините си опит и знания. А ежедневната работа в лабораторията по Токсикология към ВМА допълнително е допринесла за практическата насоченост на дисертацията, за решаването на важни актуални проблеми с реални проби и с истински случаи.

Всички изисквания и критерии на Факултета по Химия и Фармация към СУ ”Св. Климент Охридски” за придобиване на образователната и научна степен „доктор” са изпълнени.

#### **Заключение:**

Представеният дисертационен труд по обем и качество на извършената работа напълно отговаря на изискванията на Закона за развитието на академичния състав в Република България. Спазен е правилника за условията и реда за придобиване на научни степени и академични длъжности в СУ “Св. Кл. Охридски”. С убеденост препоръчвам на уважаемите членове на научното жури да гласуват за присъждането на Силвия Стоянова Стойкова образователната и научна степен „доктор” по професионално направление 4.2. Химически науки (Аналитична химия).

16.03. 2016г

София

Рецензент:

/проф. дхн Соня Ганева/