

РЕЦЕНЗИЯ

от проф. д-р Христо Стефанов Гагов

Биологически факултет на СУ „Св. Климент Охридски”

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

в професионално направление 4.3. Биологически науки

научна специалност Зоология - Зоология на безгръбначните животни

Тема на дисертационния труд на Елица Тодорова Денчева:

„Роля на азотния оксид като регулатор и модулатор на активността на ацетилхолинестеразата и бутирилхолинестеразата в ЦНС при различни животни”

Общо представяне на процедурата и докторанта

Представеният комплект материали на хартиен и електронен носител е в съответствие с Процедурата за придобиване на ОНС „доктор“ в СУ „Св. Климент Охридски” и включва следните документи:

- автобиография
- копие от дипломи за висше образование
- заповеди на Ректора за записване в докторантура и за отчисляване с право на защита
- удостоверение за положени изпити от индивидуалния план
- дисертационен труд
- автореферат
- списък на научните публикации по темата на дисертацията
- копия на научните публикации
- списък на участията в научни форуми
- други документи, свързани с хода на процедурата.

Кратки биографични данни за докторанта

През 2009 г. Елица Денчева се дипломира като бакалавър със специалност Биология, а през 2012 г. придобива магистърска степен по Физиология на растенията към Биологически факултет на СУ „Св. Климент Охридски“. От 2014 г. до 2017 г. е редовен докторант към същия факултет.

Актуалност на тематиката и целесъобразност на поставените цели и задачи

Тематиката е актуално от научно-теоретична и научно-приложна гледна точка. Получени интересни резултати в област на интензивни изследвания в световен мащаб. Така например е установено е, че естествени и изкуствени донори на азотен оксид (NO) имат протектиращ ефект върху холинестерази от насекоми и гръбначни животни, чиято ензимна активност е повлияна от различни по своята химична природа инхибитори.

Дисертационният труд на редовен докторант Елица Денчева е разработен под научното ръководство на доц. д-р Радой Иванов, който е пенсиониран дългогодишен преподавател в Биологически факултет на СУ по физиология на животните и човека и е изпълнен в лаборатории на факултета. Този труд е базиран на 4 научни статии, като всички те са на английски език. За петата написана и представена публикация не е представен документ, че е приета за печат поради което я изключвам от списъка на публикациите. Участията на Елица Денчева в научни форуми по темата на дисертацията са 6.

Дисертацията се състои от 169 страници, от тях 9 стр. литература. Дисертацията е с междуредие 1.5, а някъде и по-малко (напр. стр. 43-48), което предполага общо около 190 стандартни машинописни страници текст, структурирана е добре и съдържа всички необходими раздели.

Литературният обзор е подробен, задълбочен и интересен. Той разглежда известните данни за физиологичната роля на NO и механизмите на неговото действие върху различни системи; представя източниците на този газов медиатор; запознава ни с фармакологични и патофизиологични данни; синтазите на NO и тяхната тъканна локализация; донори на NO, както и ацетилхолинестеразите, бутирилхолинестеразите, холинергичните рецептори и техните вътреклетъчни сигнални вериги, и др.

Разделът *Материали и методи* е твърде подробен, което позволява проследяването на всички експериментални подходи и стъпки, и при желание, тяхното възпроизвеждане.

Резултати и обсъждане. Данните в този раздел са много и са получени при експерименти с различни видове гръбначни и безгръбначни животни – лабораторен бял плъх линия Wistar, домашен заек, пчели (*Apis mellifera*) и оси (*Vespa germanica*). Този раздел се състои от 95 страници и се илюстрира от 33 фигури и 15 таблици. Данните убедително подкрепят направените изводи. Дискусията практически протича

успоредно с представянето на експерименталните данни, поради което намирам за излишно наличието на толкова подробен обобщаващ раздел *Общо обсъждане*.

Библиографията представя 153 литературни източника.

Изводите добре обобщават получените данните. Изводите и приносите са формулирани кратко и ясно. В тях се съдържа нова информация за действието на NO върху ацетилхолинестеразната и бутирилхолинестеразната активности в различни структури от гръбначни и безгръбначни животни, ефектите на L-аргинин като физиологичен донор на NO, на използвания екзогенен такъв – натриев нитропрурид и др. Приносите са седем и разглеждат основно активизиращата роля на NO върху изследваните ензими, както и токсичността на ферицианидите. Някои от тях съдържат важни препоръки за опазването на животните и пчелите частност в условията на активно прилагане на пестициди при съвременното интензивно земеделие. Освен това се дискутира и протективната роля на NO при някои видове отравяния при животни и човек. Следователно резултатите от тези изследвания са не само интересни, но са и полезни за практиката. Не са отбелязани цитирания на публикациите по темата на дисертационния труд.

Проектът за автореферат се състои от 40 страници с междуредие 1 като последната е благодарности. Той отразява основните акценти и достижения на докторантския труд, представя и обсъжда получените резултати, както и съдържа 22 фигури, две таблици, 12 извода, 7 научно-теоретични и научно-приложни приноса, списъци на 5-те публикации по темата на дисертацията и на 6-те участия на редовен докторант Елица Денчева в научни форуми.

Имам следните забележки към този труд.

- 1) Повечето литературни източници (143 от общо 153) са описани два пъти – един път в долната част на страницата и втори – накрая. Макар и това да е удобно за читателя възприето е да се използва само едно от тях - първия тип цитиране се прилага най-вече в книги, а втория - в статии и дисертации.
- 2) Последните 2 изречения от раздел *Цел* спадат към задачи.
- 3) В *Литературния обзор* не се споменават някои важни публикации, които са необходими да очертаят по-точно актуалните научни представи към момента на провежданите от докторантката изследвания. Такива например са Lerman et al. 1998,

Circulation. 97:2123-28; Sasaki et al. 2004, Respir Med. 98:205-212 и Jeyarasasingham et al. 2000, J Pharmac Exper Therap. 295: 314-320 – виж също текста по-долу;

- 4) Разделът *Резултати и обсъждане* е номериран чрез две последователни римски числа, което затруднява търсенето.
- 5) Текстът на стр. 60-61 от раздел *Резултати и обсъждане* е по-подходящ за раздела *Материали и методи*;
- 6) Има таблици в текста под фигурите, което не се практикува. Обикновено таблици се прилагат в текста за *Резултати*;
- 7) Монографията Иванов, Р., 2006. е спомената три пъти в цитираната литература;
- 8) На стр. 66, долу е цитирано на английски език изречение от публикация на Aisaka et al., 1989. По-добре би било то да беше преведено;
- 9) Цитатите на публикациите на Chen et al. 2015, Butler & Megson 2002 и Walpole et al. 2002 се нуждаят от попълване.

Освен това важен и недостатъчно пояснен факт е, че използваните милимоларни концентрации за постигане на значим ефект многократно надхвърлят достиганите при физиологични условия субмилимоларни стойности при гръбначни животни (Sasaki et al. 2004. Respir Med. 98:205-212) и човек (Armengou et al. 2003. J Cer Blood Flow & Metab. 23:978-84; Lerman et al. 1998. Circulation. 97:2123-28). Приемливо обяснение на тези разлики в ефектите би могъл да бъде фактът, че измерванията на Елица Денчева са провеждани *in vitro*, в хомогенат от различни структури, при което се нарушава нативното разположение на ензими и се прекъсва последователността на компонентите на сигналната верига на NO, водещо до по-неефективно продуциране на вторичния посредник цГМФ. Всичко това би могло да бъде причина за необходимост от много по-високи концентрации на донор на NO или на L-аргинин в сравнение с нативни условия.

Друго, което би било полезно да присъства в текста, са някои публикации, които представят резултати, получени при подобни на представените в дисертационния труд експерименти. Така Lerman et al. 1998, Circulation. 97:2123-2128 разглеждат подобрението, което настъпва при пациенти с ендотелна дисфункция (понижена чувствителност на ендотела към ацетилхолин) в резултат на дълговременно приемане на L-аргинин. При друго изследване Jeyarasasingham et al. 2000, J Pharmac Exper Therap. 295: 314-320 съобщават за NO-стимулиращо развитие на експериментална миопатия *in vivo*, предизвикана от ацетилхолинестеразния инхибитор *paraoxon*. Във втория случай

результатите са противоположни на получените от Денкова и Иванов и би било интересно да се дискутират. Въпреки тези допълнения съм съгласен с написаното в този докторски труд, че в литературата липсват системни изследвания относно действието на NO върху холинестеразите, особено в случаите когато те са предварително инхибирани от различни субстанции.

Забележките ми са предимно от технически характер и не променят общата ми положителна оценка за представените изследвания.

Основното достойнство на дисертационния труд е убедително подкрепената хипотеза, че NO стимулират ацетиловите и бутириловите холинестерази в най-различни органи и видове. Доказан е протективният ефект на естествения NO донор - аминокиселината L-аргинин, както и на ниски дози екзогенен такъв. Частично е проследен и механизма на NO медиация (сигналната верига). Тези резултати са с научно-приложно значение. Направеният преглед на литературата показва, че публикациите в тази област са оскъдни и противоречиви. Затова отчитам приносите за новаторски, още повече, че те са в една изключително интензивно развиваща се и много конкурентна област на научни изследвания, каквато е проучване на ефектите на този най-популярен и универсален газов медиатор и то върху отлично изследваната холинергична невромедиация. Добро впечатление ми прави и малкият брой печатни грешки в дисертационния труд.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В заключение, смятам, че поставената цел и задачи са успешно изпълнени. По структура и съдържание представеният дисертационен труд отговаря напълно на изискванията на Закона за развитие на академичния състав в Република България (ЗРАСРБ), Правилника за неговото приложение за ОНС „Доктор” и Правилника на СУ „Св. Климент Охридски“. На базата на гореизложеното препоръчвам на членовете на научното жури **да присъди образователната и научна степен ‘доктор’** на Елица Денчева в професионално направление 4.3. Биологически науки, научна специалност Зоология (Зоология на безгръбначните животни).

26.03.2018 г.

Подпис:

(проф. д-р Христо Гагов)