

**До:**  
уважаемите членове на Научното жури,  
определено със заповед  
№ РД-38-404/13.07.2022 г.  
на Ректора на Софийски университет  
“Св. Климент Охридски”  
проф. Анастас Герджиков, дфн

## **Рецензия**

от доц. д-р **Любомира Николаева-Гломб**,  
завеждащ Отдел „Вирусология” на НЦЗПБ, София

**на дисертационен труд за присъждане на ОНС “доктор”**  
в област на висше образование 4. Природни науки, математика и информатика,  
професионално направление 4.3. “Биологични науки”  
по научна специалност “Вирусология”

на **Венелин Венциславов Цветков**,  
бакалавър по молекулярна биология и магистър по вирусология,  
редовен докторант по вирусология, зачислен на 15.07.2018 г.  
със заповед № РД-20/1076 от 15.07.2018 г. на ректора на СУ “Св. Климент Охридски”

на тема **„Изследване на въздействието на физични и биологични фактори  
върху реализацията на херпесни вируси”**

за получаване на научната и образователна степен „доктор” в област на висше  
образование 4. Природни науки, професионално направление 4.3. “Биологични науки”  
по научна специалност “Вирусология”

представен за защита пред научно жури,  
утвърдено със заповед № РД-38-404/13.07.2022 г.  
на Ректора на СУ “Св. Климент Охридски” проф. Анастас Герджиков, дфн

**Декларирам**, че нямам конфликт на интереси по смисъла на чл. 4, ал. 5 от  
Закона за развитие на академичния състав в Република България (ЗРАСРБ). Нямам  
обща публикации с Венелин Венциславов Цветков.

Представените ми материали по защитата на дисертационния труд отговарят на  
изискванията на ЗРАСРБ и на Правилника за прилагането му.

### **Тема на дисертацията и актуалност на разработвания проблем**

Човешките херпесни вируси, някои от които причиняващи заболявания, познати  
от древността, а други – описани в по-ново време, са разпространени повсеместно.  
Характерна особеност на тези вируси е, че след първоначалното инфектиране на

индивида те установяват доживотна латентна инфекция с възможни реактивации. Както първичната инфекция, така и реактивациите могат да протекат безсимптомно, но могат да доведат и до различни по тежест, включително животозастрашаващи клинични състояния. Макар че са налице няколко вискоефективни селективно действащи антихерпесни препарати, търсенето на ефективни начини за овладяване, ограничаване и контрол на херпесната инфекция е постоянно развиващо се направление на вирусологичната наука. Разработването на нови антихерпесни препарати продължава с непрекъснато упорство, като се обръща внимание и на алтернативни източници, каквито са природните продукти. Разкриването на потенциала на българските лечебни растения би било принос в съвременната приложна наука. В този смисъл темата на дисертационната разработка, посветена на биологичните фактори за въздействие върху херпесните вируси, е актуална, тъй като част от нея е посветена именно на търсенето на антихерпесна активност на екстракти от три български растения.

Другата част от дисертационната разработка е посветена на физични фактори, оказващи влияние върху херпесните вируси. В условията на пандемията *COVID-19* се оказва, че е нужно разширяване и конкретизиране на практическите знания, отнасящи се до ефективността на личните предпазни маски за лице за всекидневно и непрофесионално приложение. Херпесният вирус е удобен модел поради чисто физическите прилики между неговите вириони и вирионите на *SARS-CoV-2* – и двата са с външна липопротеинова обвивка, и двата са с относително сферична форма и притежават приблизително еднакви размери. В този смисъл другата част от темата е изключително актуална и приложно насочена.

На трето място дисертацията изследва въздействието на нискотемпературна неравновесна газоразрядна плазма върху репликацията на херпесните вируси. Съвременните достижения на физиката и химията бързо намират приложение в областта на човешкото здраве. Плазмените технологии са сравнително нов “гост” на медицината, но те вече успешно се прилагат в хирургичните ендоскопски процедури и при лечение на трудно зарастващи рани. Установен е деактивиращият ефект на студената плазма по отношение на няколко опасни патогена. И всичко това едва в последните 10-20 години, което е доказателство за пионерните за България изследвания, залегнали в разработваната дисертация.

Имам известни резерви към формулирането на заглавието, а именно “.....въздействие върху *реализацията* на херпесните вируси”. Независимо от

разясняването за използването на термина *реализация* в хода на състоялата се преди време апробация, продължавам да смятам, че употребата на този термин е неудачна.

### **Литературна осведоменост на автора**

Представеният литературен обзор е обособен в няколко части, посветени последователно на класификацията, строежа, репликацията при литична инфекция, феномена латентна херпесвирусна инфекция, цитопатологията и патогенезата на инфекцията, особеностите на имунния отговор, терапията и имунопрофилактиката. Достатъчно внимание е отделено на природните продукти с антивирусен ефект с описание и на българските лечебни растения с доказан антихерпесен ефект. Представена е справка на разкритите досега биологични активности на трите растения, които са обект на настоящата дисертационна разработка.

Литературният обзор разкрива, че авторът познава добре херпесните вируси. Разположен е на 42 страници и практически престава малко повече от 1/3 от дисертационния труд. Използани са 155 литературни източника, както класически, така и относително по-нови публикации по разглежданите проблеми. Редица от фактите, описани в обзора обаче, не са подкрепени от литературни източници. За съжаление, обзорът не е обновяван след последната му редакция и най-пресният цитиран източник е от 2016 г. Някои от посочените в обзора инхибитори на вирусната репликация вече не се прилагат в клиничната практика, а други, които присъстват на фармацевтичния пазар, не са споменати, например *Vistide* (сидофовир), единствен за лечение на цитомегаловирусен ретинит при ХИВ/СПИН пациенти.

Отстоянието от повече от 5 години за бурно развиващата се наука вирусология, още повече пък за граничната област, отнасяща се до приложението на плазмата и нефармацевтичните средства за протекция от човешките патогенни вируси, е значимо. Дразнещи са правописните и технически грешки, особено тези, свързани с членуването, които са допуснати в текста. Някои от тези пропуски бяха отразени и в предварителната ми рецензия. Посочената номерация на цитатите в текста в редица случаи не отговаря на списъка на литературата, което е проява на още по-дразнеща небрежност. В допълнение, за читателя би било много по-удобно, ако описанието на известното досега за трите растения, които са обект на изследване в дисертационния труд, беше открито спрямо останалата част на обзора, отнасяща се изобщо до лечебните растения.

Осегаемо липва заключителен и в същото време свързващ със следващите раздели на дисертацията абзац, в който да е упоменато какви проучвания са проведени и каква е работната хипотеза за тези проучвания.

### **Цел и задачи** на дисертационното проучване

**Целта** на дисертационното проучване практически е в три направления: (i) да се изследва антихерпесвирусният и вирусоциден ефект на екстракти от три български лечебни растения, т.е. това са биологичните фактори, за които става въпрос в заглавието на темата. А изследването на физичните фактори съответно включва: (ii) да се определи ефектът върху извънклетъчните вириони и върху репликацията на херпесните вируси, ако растежната среда, в която се култивират херпесните вируси, се третира с нискотемпературна неравновесна газоразрядна плазма и (iii) да се определи вирус филтриращата ефективност на личните предпазни маски за лице. **Набелязаните задачи** за постигане на целта са поставени логично.

### **Методична страна**

Използваните методи за определяне на антивирусната и вирусоцидна активност на изследваните биологични и физични фактори са от арсенала на класическата вирусология със съответните съвременни модификации. Това са международно признатите методи за изследване на антивирусна и вирусоцидна активност. Те са адекватни по отношение на търсения отговор на поставените задачи и цел. Повечето методи са описани излишно подробно и дидактично по-скоро подходящо за методично указание, а не за научен текст. Налице са ненужни повторения на оперативни процедури. И в тази част на дисертацията са допуснати множество технически и правописни грешки. Неправилното използване на пълен и непълен член и особено дразнещо.

На няколко места в раздел “Материали и методи” е споменато, че т.нар. МТТ-тест на Мосман е тест за определяне на антивирусна активност. Това не е така. МТТ-тестът е тест за определяне на клетъчна жизненост. В разработената дисертация тестът, с който е определена антивирусната активност, е ЦПЕ-инхибиращият тест, а тестът на Мосман е използван за обективно отчитане на антивирусната активност чрез отграничаване на съхранилите се в резултат от въздействието с антивирусния агент живи клетки от мъртвите такива, поразени от вируса.

## Резултати и приноси на дисертационния труд

Получени са достатъчно резултати, отговарящи на поставените цел и задачи. Резултатите са илюстрирани с помощта на множество таблици и фигури. Резултатите са обособени в отделни части съответно за всеки от изследваните физични или биологични фактори на въздействие върху репликацията или извънклетъчния вирус.

По отношение на изследваните растителни екстракти за всеки един от тях са определени основните химиотерапевтични показатели – максимална нетоксична концентрация, цитотоксична концентрация 50, инхибираща концентрация 50, селективен индекс. Изследвана е и вирусоцидната активност на екстрактите, но такава не е установена.

Изследвани са растителни екстракти от три български лечебни растения – от плодовете на диворастяща червена боровинка, Артемизия и Астрогалус. Червените боровинки са събирани в два различни географски региона – в Стара планина и в Родопска планина. От плодовете от всеки регион са направени съответно тотален метанолов екстракт, екстракт, съдържащ предимно флавоноидите и фенолните киселини и екстракт, съдържащ предимно антоцианините, т.е. изследвани са свойствата на 6 екстракта. Астрогалусът е събиран в планината Витоша и е изследван метанолов екстракт от надземните му части. Артемизията е събирана в Понор планина и са изследвани два нейни екстракта, хлороформен и воден, от надземните ѝ части.

Обобщено, изследвани са антивирусните и вирусоцидните свойства на общо 9 екстракта от 3 растения срещу два херпесни вируса, човешки алфахерпесвирус 1 и 2. Антивирусен ефект е установен за тоталния екстракт от червените боровинки, събирани в Стара планина, за екстракта от Астрогалус и за водния екстракт от Артемизия. Вирусоциден ефект не е установен за нито един от изследваните екстракти.

Бих запитала автора как би обяснил установения от факт, че фракция В на екстракта от червени боровинки, събирани в ареала на Стара планина, има почти едни и същи стойности на максимална нетоксична концентрация и цитотоксична концентрация 50, съответно 0,500 mg/mL и 0,556 mg/mL. Подобно явление, макар и с не толкова близки стойности, е наблюдавал и при фракция В на екстракта от боровинките, събирани в Родопска – съответно 0,75 и 0,84 mg/mL. Какви са причините за този толкова тесен диапазон? Интерес възбуди и установеният факт, че тоталните екстракти от червени боровинки, събирани в Стара планина, притежават антивирусно действие, а тези в Родопска – не. Как би могло да се обясни това?

Втората част от дисертационния труд е посветена на изследването на ефекта на физичните фактори и в частност на определянето на вирус-филтриращата ефективност на текстилните маски за лице и на маските с филтрираща лицева част. Получените резултати подкрепят необходимостта от тези лични предпазни средства за ограничаване на разпространението на респираторни патогени с размерите на средно голям вирус.

Що се отнася до изследването на ефекта от третиране с нискотемпературна газоразрядна плазма, мисля, че тези изследвания са уникални за страната и изобщо пионерски, тъй като тази област на биомедицинските науки започна да се развива едва в последните едно-две десетилетия. Разработването на дисертация в тази област е изключителен принос, защото създава специалист в едно междудисциплинарно направление, което със сигурност има бъдеще.

Въз основа на получените резултати са формулирани **изводите**, с които в общи линии съм съгласна, но смятам, че е необходима стегнатост на изложението им. Деветнадесет извода са твърде много и излишно разводняват достиженията на дисертационния труд. Напълно подкрепям изтъкнатите приноси в декларацията за оригиналност.

### **Публикации във връзка с дисертацията**

Във връзка с разработването на дисертацията са публикувани три статии: две от тях са с импакт фактор и квантил. В едната от тях Венелин Цветков е първи автор. В третата представена статия, публикувана в Годишния сборник на Университета, е също първи автор. Представените статии са във връзка със всяка от трите области на проучване в дисертацията.

Не е представен списък от участия в международни или национални научни събития спредставяне на резултати от работата по дисертацията.

### **Оформяне на дисертационния труд**

Представеният ръкопис се състои от 123 страници и следва традиционната схема на изложение: въведение – 2 стр., литературен обзор – 42 стр. (34% от същинската част на дисертацията) и собствени изследвания – 77 стр. (62% от същинската част на дисертацията), състоящи се от: цел и задачи – 2 стр., материали и методи – 28 стр., резултати и обсъждане – 42 стр., изводи – 4 стр. и декларация за оригиналност с

приноси – 1 стр. Списъкът на цитираната литература обхваща 155 източника като стилът на цитиране не е унифициран за отделните източници. Литературният обзор е илюстриран от 12 фигури и 6 таблици, а собствените изследвания са подкрепени от 19 фигури и 17 таблици. Някои от фигурите не са номерирани.

### **Оформяне на автореферата**

Авторефератът съответства на изискванията и отразява коректно в съкратена форма съдържанието и основните постижения и приноси на дисертацията.

### **Заклучение**

Смятам, че независимо от направените от мен забележки, представената дисертация е достатъчна по обем, методични подходи, получени резултати и извлечени приноси и представлява завършен научен труд, отговарящ на изискванията за придобиване на образователната и научна степен „доктор” според Закона за развитие на академичния състав в Република България и Критериите на Софийски университет “Св. Климент Охридски”. Налице са научни и научно-приложни резултати, представляващи оригинален принос в науката. Налице са и три статии по темата на дисертацията, като две от тях са в специализирани международни списания с импакт фактор и квантил, тъй като са реферирани в световно известни бази данни.

Давам своята **положителна оценка** и предлагам на почитаемото научно жури да присъди образователната и научна степен “доктор” на Венелин Венциславов Цветков в област на висше образование 4. Природни науки, професионално направление 4.3. “Биологични науки” по научна специалност “Вирусология”.

София, 5 октомври 2022 г.

Рецензент:

доц. д-р Любомира Николаева-Гломб