

До: уважаемите членове на Научното жури,  
определено със заповед № РД 38-337/08.07.2019  
на Ректора на СУ “Св. Климент Охридски”

## 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, професионално направление  
4.3. “Биологични науки” по научна специалност “Вирусология”

на **Петя Яворова Ангелова**,  
бакалавър по молекулярна биология и магистър по молекулярна вирусология,  
редовен докторант по вирусология, отчислена с право на защита съгласно  
заповед РД 20-2003/20.12.2018 на Ректора на СУ “Св. Климент Охридски”

на тема

**„Антихерпесен ефект на екстракти, получени от *Artemisia chamaemelifolia*  
Vill., *Sambucus nigra* L., *Sambucus ebulus* L. и *Nepeta nuda* spp. *nuda* L.”,**

представен за защита пред научно жури, утвърдено със заповед  
№ РД 38-337/08.07.2019 на Ректора на СУ “Св. Климент Охридски”

**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  
общи публикации с Петя Яворова Ангелова.

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 са разпространени повсеместно и след първичното  
инфектиране на индивида причиняват доживотна латентна инфекция с възможни  
рекативации. Както първичната инфекция, така и реактивациите могат да протекат  
безсимптомно, но могат да доведат и до различни по тежест, включително и  
животозастрашаващи клинични състояния. Няколко вискоефективни селективно

действащи антихерпесни препарати са достъпни за етиологично насочено терапевтично приложение: ацикловир, валацикловир, пенцикловир, фамцикловир, ганцикловир, идоксуридин, бривудин. Селекцията на резистентно вирусно потомство в хода на лечението обаче е постоянна заплаха, независимо че засега за изолиране на резистентни вируси се съобщава рядко, и то само за определена кохорта пациенти, каквито са имунокомпрометираните. Съобщенията за съществуваща селекция на резистентни вируси, както и самата природа на херпесните вируси и способността им спонтанно да мутират и да съществуват под формата на "облак" от квазивидове налага разработването на нови антихерпесни препарати да продължава с непрекъснато упорство, като се обръща внимание и на алтернативни източници, каквито са природните продукти. Доказано е, че редица медицински растения притежават антихерпесен потенциал.

В този смисъл предлаганата дисертационна разработка е актуална, имайки предвид и глобално нарастващия интерес към природната медицина и природосъобразния начин на живот. Разкриването на потенциала на българските лечебни растения би допринесло за откриването на възможности за създаване на иновативни продукти, подпомагачи, допълващи или усилващи, а защо не и заместващи, ефекта на синтетично създадените антихерпесни медикаменти.

### **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, особеностите на имунния отговор и патогенезата, терапията и профилактиката на инфекцията. Специална част от обзора е посветена на природните продукти с антивирусен ефект с описание и на българските лечебни растения с доказан антихерпесен ефект. Много добро впечатление прави изтъкването на приноса на български автори в изучаването на биологичните активности на лечебните растения. Представена е подробна справка на разкритите досега биологични активности на растенията, които са обект на настоящата дисертационна разработка.

Литературният обзор разкрива, че авторът познава в детайли херпесните вируси. Използваните почти 300 литературни източника са както класически, така и съвсем нови публикации по разглежданите проблеми. Разположен е на 70 стр. и представлява около 1/3 от обема на цялата дисертация. Повече от 1/3 от самия обзор пък е посветена

на конкретно разработвания проблем – антивирусните средства, механизма на действие, там, където е разкрит, природните продукти, растенията, които са обект на изследването. Обзорът завършва с изчерпателно описание на известните досега факти относно биологичната активност на тези лечебни растения.

Литературната осведоменост на автора е респектираща и крайната ми оценка за обзора е много добра. В текста прозира задълбочен поглед на автор с умения и капацитет за обобщаване на натрупания световен и местен опит и за съгласуване и интегриране на настоящите познания към целите на разработваната дисертация.

**Целта** на дисертационното проучване е да се изследва активността на екстракти от четири лечебни растения, а именно планински пелин (*Artemisia chamaemelifolia* Vill.), черен и тревист бъз (*Sambucus nigra* L. и *Sambucus ebulus* L.) и коча билка (*Nepeta nuda*) – срещу няколко щам на човешки алфахерпесвируси 1 и 2, включително и такъв, резистентен към ацикловир. Целта е ясно очертана. Набелязаните **задачи** за постигане на целта са поставени логично.

### **Методична страна**

Използваните методи са от арсенала на класическата вирусология със съответните съвременни модификации. Това са международно признатите методи за изследване на антивирусна активност. Те са адекватни по отношение на търсения отговор на поставените задачи и цел.

### **Резултати и приноси на дисертационния труд**

Дисертационният труд проучва антивирусния и вирусоцидният ефект на водни (и един хлороформен) екстракти, получени от различни части на 4-те растения, които са събрани от естествените им ареали в България. Ефектите са изследвани спрямо един щам на човешки алфахерпес вирус 1 и два щам на човешки алфахерпес вирус 2, като единият от тях е ацикловир-резистентен.

Резултатите са обособени в отделни части съответно за всяко от изследваните растения. За всеки екстракт са определени основните химиотерапевтични показатели – максимална нетоксична концентрация, инхибираща концентрация 50, цитотоксична концентрация 50, селективен индекс. Определена е и степента на вирусоцидна активност на екстрактите, където има такава.

От надземните части на растението *Artemisia chamaemelifolia* Vill. (планински пелин) са изследвани два вида екстракти – воден и хлороформен – като е установено, че изразен антивирусен ефект притежава предимно водният екстракт, т.е. най-вероятно активните субстанции са с полярна природа. За съжаление *Artemisia chamaemelifolia* Vill. е защитен вид, ареалът му на разпространение е ограничен и това затруднява събирането на достатъчно материал, за да се продължи с експерименти, свързани с определяне на начина на антивирусно действие.

Поради липсата на антивирусен ефект при хлороформения екстракт от *Artemisia chamaemelifolia* Vill. за изследването на активностите на следващите растения авторите са се спрели само на водните им екстракти.

От плодовете на двата представителя на род *Sambucus*, тревист и дървовиден черен бяз, както и от листата и цветовете на последния, са извлечени водни екстракти. Установено е, че те в различна степен успяват да инхибират репликацията на изследваните херпесни вируси, но не достигнат активността на референтния инхибитор ацикловир.

Най-обширни са изследванията върху водния екстракт от надземните части на растението *Nepeta nuda*. Този екстракт е охарактеризиран най-пълно както по отношение на активността му спрямо трите херпесвирусни щамове, така и по отношение на различните многоциклови и едностъпни тестове за определяне на антивирусната му активност. Установява се наличие на селективна антивирусна активност, повлияваща ранните етапи на вирусната репликация. Най-силно повлиян е етапът на вирусна адсорбция върху клетъчната повърхност. Макар и да не се достига селективен индекс над 10, доказването на наличие на селективен антивирусен ефект при водните извлекци от надземните части на *Nepeta nuda* spp. превръща това растение в кандидат за източник на алтернативно лечение на активна херпесвирусна инфекция, особено при случаите с ацикловир-резистентни вирусни щамове.

Поставената цел – да се изследва анти-херпесвирусната активност на екстракти от различни части на 4 български растения, събирани от естествените им ареали – е постигната. Изпълнени са всички задачи, довели до постигането ѝ. Получените резултати са изложени достъпно с помощта на множество таблици и фигури (42 фигури и 22 таблици). Смятам обаче, че таблиците и фигурите, илюстриращи резултатите, са твърде многобройни. На практика някои таблици дублират информация, представена във фигурите. Някои таблици биха могли да бъдат обединени и в една обща таблица. Към илюстративния материал на дисертацията допълнително са приложени снимки,

визуализиращи резултати от МТТ-теста в постановката на многоцикловия ЦПЕ-инхибиращ тест, както и на различните постановки за изследване на антивирусен и вирусоциден ефект, прилагащи плаковия метод за количествено определяне на вируси.

Въз основа на получените резултати и направената **дискусия** върху тях са формулирани **изводите**, с които съм съгласна.

В изпълнение на изискванията на Закона като част от дисертацията е представена и авторска **декларация за оригиналност**, изтъкваща приносите на разработката. Напълно се съгласявам с очертаните в нея приноси.

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

Във връзка с разработването на дисертацията са публикувани две статии: едната е в *Acta Microbiologica Bulgarica* през 2016 г., представяща ефектите на водния екстракт от *Nepeta nuda* върху репликацията на човешки алфахерпесен вирус 2, а другата – приета за печат в Докладите на БАН, което е удостоверено със съответната служебна бележка от редакцията на списанието, представяща антихерпесната активност на екстрактите от *Artemisia chamaemelifolia* Vill. И в двете статии Петя Ангелова е първи автор. Първото списание фигурира в Националния референтен списък на съвременните български научни издания с научно рецензиране, второто – също фигурира там, но се намира и в Списъка на съвременните български научни издания, реферирани и индексирани в световно известни бази данни с научна информация като за изминалата година има импакт фактор 0,27, SJR фактор 0,21, h-индекс 16 и Q ранг Q2.

Дисертантката представя списък от 10 съобщения, направени на едно международно и на 9 национални научни събития, като в 6 от тях е първи автор.

### **Оформяне на дисертационния труд**

Представеният ръкопис се състои от 200 страници и следва традиционната схема на изложение: въведение – 2 стр., литературен обзор – 70 стр., собствени изследвания – 82 стр., състоящи се от: цел и задачи – 1 стр., материали и методи – 15 стр., резултати – 56 стр., обсъждане – 8 стр., изводи – 2 стр. и декларация за оригиналност с приноси – 1 стр. Списъкът на цитираната литература обхваща 297 източника. Литературният обзор е илюстриран от 13 фигури и 1 таблица, а собствените изследвания са подкрепени от 42 фигури и 22 таблици.

### Оформяне на автореферата

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

### Заклучение

Представената дисертация е напълно 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 две статии по темата на дисертацията, като едната от тях е в специализирано международно списание, реферирано в световно известна база данни.

Убедено давам своята **положителна оценка** и предлагам на почитаемото научно жури да присъди образователната и научна степен “доктор” на Петя Яворова Ангелова в област на висше образование 4. Природни науки, професионално направление 4.3. “Биологични науки” по научна специалност “Вирусология”.

София, 21 септември 2019 г.

Рецензент:

**REVISED**

4:54 pm, Oct 10, 2019

доц. д-р Любомира Николаева-Гломб