

РЕЦЕНЗИЯ

върху дисертационен труд на тема: *„Инотропен ефект на обестатин върху сърце на жаба (*Pelophylax ridibundus*). Роля на вегетативната инервация.“* на Биляна Мариянова Илиева, докторант на самостоятелна подготовка към Катедра „Физиология на животните и човека“ за придобиване на ОНС "Доктор" в научно направление **4.3. Биологически науки (Физиология на животните и човека)**

Рецензент: Проф. дбн Росица Конакчиева, Биологически факултет, СУ „Св. Климент Охридски“

Рецензирането на материалите, представени в настоящата процедура, се основава на изискванията на Закона за развитие на академичния състав в Република България, Правилниците за неговото приложение, на Заповед № РД-38-632/02.12.2022 г. на Ректора на СУ „Св. Кл. Охридски“ за назначаване на Научно жури и е съобразено с препоръчителните изисквания, приети от Академичния съвет на СУ“ Св. Климент Охридски“ за придобиване на научни степени и заемане на академични длъжности.

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.

Биографични данни

Асистент Биляна Илиева завършва през 2004 г. с отличен успех бакалавърска степен по „Биология“ в БФ на СУ „Св. Климент Охридски“, а в последствие и магистратура по „Физиология на животните и човека“ към едноименната катедра на Биологически факултет.

В периода 2007 - 2008 ас. Биляна Илиева работи като биолог-специалист в секция „Биологични ефекти на природни и синтетични вещества“ към Института по невробиология, БАН. Научно-изследователската и работа е в областта на медиаторните механизми в основата на лекарствените ефекти на природни и синтетични вещества.

От края на 2008 до настоящия момент работи като асистент с пълна учебна натовареност към Катедра „Физиология на животните и човека“, Биологически факултет на СУ „Св. Климент Охридски“. Провежда лабораторни упражнения на студенти бакалаври 3-ти и 4-ти курс, студенти магистри и извършва научно-изследователска работа. Има участия в 13 научни проекта и 11 конференции, от които 4 международни. Автор е на 8 научни статии, от които три с импакт фактор по темата на дисертационния труд.

Зачислена е като докторант на самостоятелна подготовка в професионално направление 4.3. Биологически науки, докторска програма „Физиология на животните и човека“ за периода от 01.02.2019 г. до 01.02.2022 г. (заповед на Ректора № РД 20-322/6.02.2019). Отчислена е с право на защита от 01.02.2022 г.

Актуалност на тематиката и целесъобразност на поставените цели и задачи

Тематиката е актуална от научно-теоретична и научно-приложна гледна точка. Обестатинът е нов и все още недостатъчно изучен хормон. Малко е известно за

механизма на неговото действие и е основателно да бъде проучена неговата роля в сложната регулация и модулиране секрецията на невромедиатори от аксоните на симпатиковия дял на вегетативната нервна система.

Дисертационният труд на докторантката ас. Биляна Илиева е разработен под научното ръководство на проф. Христо Гагов в катедрата по Физиология на животните и човека към Биологически факултет на СУ „Св. Климент Охридски“. Дисертацията е базирана на три научни статии - всички в международни научни списания със SJR и индекс Q3 и Q4. Във всички публикации докторантката е първи автор, което е доказателство за нейния принос в научните трудове. Участията на ас. Биляна Илиева в научни форуми по темата на дисертацията са пет, от които две са на международни конференции.

Дисертацията се състои от 115 страници като 18 от тях са цитираната литература. Трудът е структуриран в съответствие с приетите стандарти и съдържа всички необходими раздели, както следва.

Литературният обзор е подробен и задълбочен. Анатомията и физиологията на сърцето при жаба (*Pelophylax ridibundus*) са разгледани в 11 страници, а регулацията на сърдечната дейност с акцент върху тази при земноводни – в други 7. Интерес представлява разделът „Обестатин“, където подробно на 28 страници са представени данните за този открит през 2005 година хормон. Обестатинът е продукт от разграждането на препрогрелиновия полипептид, в резултат на което се получават два активни продукта – грелин и обестатин. Описано е развитието на научното знание за обестатина, започнало с предположението, че потиска храненето, откъдето произтича и името му – от лат. „*obedere*“ – поглъщам и „*statin*“ – потискам. Съществуват малко доказателства за конкретния механизъм на действие и сигнален път използвани от обестатина за инициране на вътреклетъчна сигнализация в прицелните клетки. Определяният първоначално като негов рецептор GPR39 по-късно е отхвърлен като възможност. В последствие за рецептор е предложен този загляукагоноп-добния пептид-1, като досега данните предполагат възможност за неговото активиране поне в някои тъкани, докато при други механизъм може да включва други рецепторни молекули. Картината допълнително се усложнява от разграждането му на по-къси пептиди, за които също се предполага, че имат биологичен ефект. Подробно са описани тъканно-специфичните ефекти на обестатина с акцент върху стомашно-чревния тракт, ЦНС, мастната тъкан и сърдечно-съдовата система, неговия невропротективен ефект и ролята

му при метаболитен синдром. Текстът в раздела *Литературен обзор* е илюстриран с девет фигури и схеми.

Цел и задачи. Целта е формулирана ясно – да се изследва ролята на вегетативната инервация за положителния инотропен ефект на обестатина и механизма, по който това се реализира. За постигането на тази цел са поставени пет експериментални задачи.

Разделът *Материал и методи* е от пет страници. Използвана е една и съща опитна постановка и методика във всички изследвания. Отделено е значително място на исторически бележки за експерименталния модел „изолирано сърце“, което може да намери по-походящо място в литературния обзор. Описанието е информативно, доказва наличието на рутина и самостоятелен експериментален опит.

Получените *Резултати* са представени на 16 страници. Илюстрирани са с една таблица и 12 фигури, една от които (фиг. 8) се повтаря с различно съдържание. Докторантката е използвала оригинален експериментален ин-витро модел и фармакологичен подход за идентифициране участието на варикозните проекции на симпатиковите аксони, регулиращи съкращенията на камерата на жабешкото сърце. Изследвани са ефектите на обестатин и адреналин върху амплитудата на камерните съкращения на сърце от жаба при използване на инхибитори за: 1) скоростопределящата реакция на синтеза на катехоламини, т.е. на тирозин хидроксилазата чрез 3 йодо-L-тирозин (3-IT); 2) транспортера за катехоламини в секреторните везикули на неврона чрез резерпин и 3) транспортера за обратен захват на адреналина с трицикличния антидепресант дезипрамин. Освен това е предизвикван окислителен стрес в аксоналните разширения чрез 6-хидроксидопамин. Получените данни са интересни и в някои отношения трудни за интерпретиране. Така напр. предварителното въвеждане на 3-IT напълно премахва ефекта на обестатина, а въвеждането на 3-IT в препарата *in vitro* - само частично. Подобно на 3-IT, дезипраминът премахва напълно ефекта на обестатин, но в присъствие на комбинацията 3-IT и обестатин сърдечните съкращения са с достоверно по-висока амплитуда от контролите. Резерпинът има слаб позитивен инотропен ефект, който се запазва в присъствие на обестатин, а предизвикващият окислителен стрес 6-ОНДА повишава амплитудата на съкращенията. В присъствие на 6-ОНДА посоката на обестатиновия ефект е обратна – към понижаване на амплитудите на камерните съкращения, макар това да е статистически недостоверно.

Разделът *Обсъждане* подробно интерпретира получените данни в светлината на известното до момента за сигналните вериги и физиологичните ефекти на обестатина, както и влиянието му върху централната и периферна нервна система. Като цяло резултатите показват гама от твърде значимо повлияване до пълно елиминиране на положителен инотропен ефект на обестатина в присъствие на изследваните ензимни инхибитори, а генериращият кислородни радикали 6-ОНДА освен токсичен ефект върху аксоните, има директен ефект върху камерната мускулатура. За прегледно представяне на използвания фармакологичен подход е включена схема на изследваните пътища за синтез и секреция на катехоламини с обозначените молекули-мишени на използваните инхибитори. За съжаление, не е ясно дали схемата е авторска оригинална или заимствана от литературен източник.

Изводите, макар и кратко формулирани, добре обобщават резултатите на проведеното от докторанта изследване. Получените нови данни ясно показват, че обестатиновият ефект върху камерната мускулатура се дължи изцяло на стимулиране на симпатиковата инервация, което води до адреналин-зависимо повишаване силата на съкращенията на камерата на жабешкото сърце. Приемам и формулирания принос, тъй като използваният интересен фармакологичен подход позволява да се разделят директната регулация на определен медиатор от косвения паракринен ефект, осъществен чрез адренергична невромедиация.

Библиографията включва 284 цитата, от тях 282 на английски и 2 на български. Извън всякакво съмнение е фактът, че докторантът е отлично запознат с литературата и умело борави с нея при интерпретацията на резултатите, което особено проличава в раздела *Обсъждане*.

Авторефератът се състои от 36 страници с междуредие 1 и една допълнителна 37-ма страница с благодарности. Той отразява основните акценти и достижения на докторантския труд, представя и обсъжда получените резултати, както и съдържа 22 фигури, 1 таблица, 5 извода, 1 принос, списък на 3-те публикации по темата на дисертацията и на петте участия в научни форуми на докторантката на самостоятелна подготовка ас. Биляна Илиева. Представен е и автореферат на английски език съгласно изискванията. В допълнение, резултатите от този дисертационен труд са представяни последователно на четири годишни конференции „Климентови дни“, като две от тези конференции са били международни. Докторантката има участие и на конференция, организирана от Института по невробиология на БАН.

Освен вече споменатите, си позволявам да обърна внимание на някои технически недостатъци, по-важните от които са:

- 1) Списъкът на използваните съкращения включва терминология както на български така и на английски език. По мое мнение е удачно да се използва само англоезичен вариант който е общоприет за научните трудове;
- 2) Качеството на илюстрациите в отдел *Литературен обзор* не е с подходяща резолюция и контраст – има необходимост от професионално възпроизвеждане на фигурите и схемите;
- 3) Литературните източници не са номерирани в текста, а са дадени само с име на първи автор. При този начин на представяне номерацията в приложената библиографична справка е излишна и ненужно затруднява читателя.

Тези и други бележки от технически характер не променят общата ми положителна оценка за представените изследвания и качеството на получените научни резултати.

Основното достойнство на дисертационния труд е убедително подкрепената хипотеза, че хормонът обестатин увеличава силата на камерните съкращения на жабешко сърце по косвен механизъм, свързан с активирането на адреналиновата секреция от симпатикови нервни окончания. До този основен извод се достига чрез разработен оригинален подход за елиминиране на вегетативната регулация чрез блокиране синтезата на катехоламини, на тяхното включване в секреторни везикули и на връщането им в аксона за нова секреция (т.е. рециклиране чрез обратен захват). Проведеното изследване съдържа ново знание и допринася за по-доброто разбиране на регулаторните ефекти на обестатина върху периферната нервна система при гръбначни животни.

Трите научни статии, свързани с дисертационния труд, са публикувани в списания със SJR. Във всички тях ас. Биляна Илиева е първи автор, което свидетелства за нейното водещо участие. Две от публикациите – съответно в *Acta Zoologica Bulgarica* (SJR 0.211/2020; ИФ 0.354/2019; Q4) и *Current Topics in Pharmacology* (SJR 0.137/2020; Q4) включват важни части от литературния обзор, а третата – в *Current Topics in Pharmacology* (SJR 0.121/2021; Q4) – резултатите от проведените изследвания. Тези 3 публикации набират 36 точки (а не 32, защото две от списанията имат само SJR, но са с Q индекс, което ми дава основание да им присъдя по 12, а не по 10 точки) по критерий

„Г“. Независимо как са отчетени наукометричните показатели на тези публикации, те надхвърлят необходимия минимум от 30 т.

Заклучение

Рецензираният дисертационен труд отразява оригинална самостоятелна научна разработка, реализирана със съвременни методи на физиологията и фармакологията. Използвайки последователен и целенасочен подход изследванията са довели до получаването на оригинални данни с фундаментално значение и медико-приложна перспектива. Имайки предвид професионалните качества на докторантката и научните постижения в настоящия труд, изразявам своята положителна оценка за представения дисертационен труд и убедено препоръчвам на членовете на Научното жури, назначено със Заповед № РД-38-632/02.12.2022 г. на Ректора на СУ „Св. Климент Охридски“, да присъдят на Биляна Мариянова Илиева образователната и научна степен ”Доктор” в професионално направление 4.3. „Биологически науки“, научна специалност „Физиология на животните и човека“.

28.02.2023 г.

Рецензент:

(проф. дбн Росица Конакчиева)