

СТАНОВИЩЕ

от доц. д-р Тонка Атанасова Василева
катедра „Биохимия и микробиология“
Пловдивски университет „Паисий Хилендарски“

на дисертационен труд за присъждане на образователната и научна степен „доктор“
в област на висше образование 4. Природни науки, математика и информатика,
професионално направление 4.3 Биологически науки
докторска програма Биохимия

Автор: Александър Христов Александров

Тема: „Ефект на пребиотични олигозахариди върху човешкото здраве“

Научен ръководител: проф. д-р Илия Николов Илиев – ПУ „Паисий Хилендарски“

1. Общо представяне на процедурата и докторанта

Със заповед № Р33-1176 от 06.03.2020 г. на Ректора на Пловдивския университет „Паисий Хилендарски“ съм определена за член на научното жури за осигуряване на процедура за защита на дисертационен труд на тема „Ефект на пребиотични олигозахариди върху човешкото здраве“ за придобиване на образователната и научна степен „доктор“ в област на висше образование 4. Природни науки, математика и информатика, професионално направление 4.3 Биологически науки, докторска програма Биохимия. Автор на дисертационния труд е Александър Христов Александров – докторант в редовна форма на обучение към катедра „Биохимия и микробиология“ с научен ръководител проф. д-р Илия Илиев от ПУ „Паисий Хилендарски“.

Представеният от Александър Александров комплект материали е в съответствие с Чл.36 (1) от Правилника за развитие на академичния състав на ПУ и включва следните документи:

1. Молба до Ректора на ПУ за разкриване на процедурата за защита на дисертационен труд;
2. Автобиография в европейски формат;
3. Протокол от предварително обсъждане на дисертационния труд в катедрата;
4. Дисертационен труд;
5. Автореферат;

6. Списък на научните публикации;
7. Копия на научните публикации;
8. Декларация за оригиналност и достоверност на приложените документи;
9. Справка за спазване на специфичните изисквания на Биологическия факултет.

Докторантът е приложил 2 броя публикации и удостоверяващ документ за едната публикация, която е приета за печат в международно реферирано списание.

Александър Александров е завършил ОКС „бакалавър“, специалност „Биологични науки“ през 2009 г. в Университет Утрехт, Миделбург, Холандия и ОКС „магистър“, специалност „Медицинска биология“ през 2013 г. в ПУ „П. Хилендарски“. В периода 2010 г. – 2019 г. работи като старши ембриолог в МЦ Салманида, Пловдив и като изпълнителен директор в Биогенини ЕООД, Пловдив. В момента е главен оперативен директор в МЦ Фи Хелт Пловдив АД. От 01.03.2016 г. е редовен докторант в докторска програма „Биохимия“ към катедра „Биохимия и микробиология“.

2. Актуалност на тематиката

Един от факторите за фертилитета при мъжете е оксидативният стрес, който е резултат от повишени нива на свободните радикали и намаляване на антиоксидантния капацитет на семенната течност и сперматозоидите. В тази връзка е изключително важно да се познават механизмите на въздействие на свободните радикали върху мембраните, белтъци и ДНК в сперматозоидите, както и промените в механизмите на сигнална трансдукция, влияещи върху фертилитета. Познанията в тази насока дават възможност за разработване на препарати, ефективно комбиниращи природни биологично активни вещества с антиоксидантни свойства, които да имат положително въздействие върху нормалната физиология на сперматозоидите. Въглехидратите имат съществена роля при разпознаването на гаметите и адхезията на молекулярно ниво. Фукозата е краен компонент в гликановите вериги на гликопротеини и гликолипиди. Фукозилтрансферазните ензими разпознават разнообразни субстрати и добавят селективно фукозни остатъци към тях. Включването на този остатък към молекулите може да им придаде уникални функционални свойства. α -L-Фукозидазите са ензимите, които разпознават и отделят крайните фукозни остатъци. Освен, че L-фукозата е важна за редица биологични функции, има данни за роля ѝ по време на оплождането, като компонент на гаметите. Като се има в предвид, че съществува връзка между структурата на въглехидратите и процесите на възпроизвеждане, както и присъствието на фукозни остатъци в края на гликани, са необходими допълнителни изследвания за изясняване на ключовата роля на α -L-фукозидазите в тези процеси.

В този смисъл считам, че тематиката на дисертационния труд за изследване на антиоксидантна активност и влияние на отделните компоненти и техния синергизъм,

включени в състава на препарата Saenergix върху α -L-фукозидазната активност и спермални показатели *in vitro* и *in vivo* е актуална с научно и научно-приложно значение.

3. Познаване на проблема

Литературният обзор представя обстоен и задълбочен преглед на литературни данни по темата на дисертацията, които са логично систематизирани.

Представена е информация за влиянието на оксидативния стрес върху мъжката фертилност, както и терапевтичните ефекти на прилагани антиоксиданти. Подробно са разгледани хипотези за молекулярния механизъм на фрагментация на ДНК в сперматозоидите, причинена от различни фактори, които от своя страна са обвързани със спермални параметри, възраст на мъжете и ефекти върху процедури за асистирана репродукция. В обзора е включена информация за биологично активни вещества, повишаващи репродуктивната способност при мъжете. Специално внимание е отделено на биологичната активност на фукоиданите от кафяви водорасли, съпоставка на методи за екстракцията им и химичен състав на получените полизахаридни фракции. Последователно са описани състава на водоразтворими полизахариди от *Lycium barbarum*, ефектите им върху оксидативния стрес и тяхното приложение в репродуктивната терапия.

Включената информация в литературния обзор се позовава на 140 литературни източника на латиница, като една съществена част е публикувана през последните 15 години. Добрата теоретична подготовка на докторанта по проблема е позволила да формулира ясно целта на изследването и 5 конкретни задачи за нейното постигане.

4. Методика на изследването

Методиката на изследването е прецизно подбрана с оглед на поставната цел и получаване на достоверни резултати по конкретните експериментални задачи. В хода на експерименталната част от работата си докторант Александров е използвал както класически, така и съвременни методи, които включват: биохимични методи, сред които ензимни анализи, изолиране и анализ на полизахариди и полифеноли, определяне на антиоксидантна активност, хроматографски техники за анализ, методи за спермален анализ и определяне на хроматинова дисперсия в сперматозоиди. Методите са подробно описани и считам, че докторант Александров е придобил необходимия методичен опит при провеждане на експериментите.

5. Характеристика и оценка на дисертационния труд и приносите

Дисертационният труд е написан на 129 стандартни страници и включва следните раздели: Съдържание – 3 стр.; Използвани съкращения – 2 стр.; Въведение – 2 стр.; Литературен обзор – 37 стр.; Цел и задачи – 1 стр.; Материали и методи – 14 стр.; Резултати и обсъждане – 44 стр.; Обобщение – 2 стр.; Изводи – 2 стр.; Приноси – 1 стр.;

Библиография – 15 стр. Получените резултати от проведените експерименти са представени на 30 фигури и 12 таблици.

Дисертационният труд представя едно комплексно изследване на механизма на влияние на отделни компоненти и техния синергизъм, включени в състава на препарат Seanergix върху спермални показатели и ДНК фрагментация в сперматозоиди *in vitro* и *in vivo*. Експерименталната част е систематизирана в 3 отделни глави, които логично следват поставените задачи.

В първата глава е изследван монозахаридния състав и съдържанието на L-фукоза във фукоидан, изолиран и пречистен от кафяви водорасли *Ascophyllum nodosum* (основна съставка в препарата Seanergix). Докторантът е оптимизирал условията за екстракция на полифеноли от изследвания многокомпонентен препарат и е определил общото им съдържание в получените екстракти. Проведени са изследвания за определяне на антиоксидантната активност на екстрактите, съдържащи фукоидан и на екстрактите от препарата Seanergix.

Във втората част докторантът е изследвал влиянието на екстракти от отделни компоненти, влизащи в състава на изследвания препарат и синергистичния им ефект върху ензимната активност на човешка α -L-фукозидаза. Проведени са серия от експерименти за установяване на ефекта на различни концентрации на фукоидан от кафяви водорасли *Ascophyllum nodosum*, активна субстанция от *Tribulus terrestris*, водни екстракти от годжи бери (*Lycium barbarum*) и многокомпонентния препарат върху α -L-фукозидазната активност. В допълнение, докторантът анализира и съпоставя получените резултати с установени ефекти върху ензима, които е изследвал след допълнително симулирано обработване на екстрактите в стомашен сок. Проведените експерименти в тази глава съставляват съществена част от цялостното изследване в дисертацията, не само като мащаб, но и като експериментални резултати, на които се основават формулираните оригинални приноси на разработката.

В последната глава са представени резултати за ефекта на многокомпонентния продукт Seanergix при пациенти с репродуктивни проблеми. Проведени са *in vivo* изследвания върху спермалните показатели и ДНК фрагментацията в сперматозоиди при 32 пациенти с понижени спермални показатели след прием на препарата в продължение на 90 дни. Докторант Александров представя детайлно получените резултати за отделните показатели, като анализира и съпоставя данните за всеки времеви интервал на отчитане – преди прием на препарата, след 60 и 90 дни прием на препарата. Счита, че тази експериментална част представлява логичен завършек на цялостното изследване в дисертацията, а резултатите от проведените *in vivo* изследвания, комбинирани с данните за антиоксидантната активност допълват нейната значимост, отразена в част от формулираните приноси.

Докторантът е представил и обобщение за перспективите при изучаване механизмите на въздействие на оксидативния стрес върху фертилитета и възможностите за преодоляване на този проблем.

От проведената експериментална работа са формулирани 9 извода, които отразяват същността на получените резултати. Приносите на дисертационния труд са разделени на оригинални и с потвърдителен хатрактър, които приемам и считам, че отразяват научните и научно-приложни постижения на дисертационния труд. Съществен научен принос на разработката е установеното за първи път активиране на човешката α -L-фукозидаза в присъствие на екстракти от *Lycium barbarum* и *Tribulus terrestris* преди и след симулирана обработка в стомашен сок. Основен научно-приложен принос на дисертационния труд са доказните антиоксидантен ефект и активиране процесите на сперматогенеза на компоненти от препарата Seanergix - фукоидан от *Ascophyllum nodosum*, активна субстанция от *Tribulus terrestris* и полизахарид от *Lycium barbarum*.

6. Преценка на публикациите и личния принос на докторанта

Във връзка с дисертацията са представени 2 научни публикации на английски език. И двете публикации са в международно реферирано списание *Journal of Bioscience and Biotechnology*. В една от публикациите докторантът е първи автор, което свидетелства за водещо му участие при обработването на резултатите и подготовката на материалите. Докторантът е участвал с постер в една национална конференция с международно участие.

Считам, че проведените изследвания, получените резултати и формулираните приноси в дисертационния труд са резултат от работата на докторант Александър Александров, под ръководството на научния му ръководител проф. Илия Илиев.

7. Автореферат

Авторефератът е изготвен съгласно изискванията и правилно отразява получените резултати, изводи и приноси на дисертационния труд.

8. Критични забележки, препоръки и въпроси

Към дисертационния труд имам следните забележки:

- Към раздел „Материали и методи“: в т.11 не е правилно да се използва термина „инхибитори“, а да се посочат изследваните вещества и екстракти; в същата точка, формулата за изчисляване на % активност съдържа „А₄₀₅ Ензимна активност“, което означение не е коректно; в т. 13 не е необходимо да се описва отново цялата методика, а да се посочат само различията в условията с т.12.

- Към раздел „Резултати и обсъждане“: в заглавието на глава 1 относно определяне на антиоксидантна активност, присъства *Lycium barbarum*, но не са представени резултати; в глава 2 би било добре да присъства по-задълбочена дискусия за

физиологичната роля на α -L-фукозидазата, за да се акцентира на необходимостта от провърданите изследвания и значимостта на получените резултати.

Посочените забележки не намаляват стойността на получените резултати.

Към докторанта имам следните въпроси:

1. Имате ли информация за състава на екстракта от *Lycium barbarum* и активна субстанция от *Tribulus terrestris*?
2. Как ще обвържете тази информация с получените резултати за активизиращото им действие върху човешката α -L-фукозидаза?

9. Препоръки за бъдещо използване на дисертационните приноси и резултати

Препоръчвам работата да продължи по изследване влиянието и синергистичния ефект върху α -L-фукозидазната активност на отделни пречистени компоненти от изследваните екстракти, както и на други биологично активни вещества с потенциално приложение в репродуктивната терапия.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Дисертационният труд *съдържа научни и научно-приложни резултати, които представляват оригинален принос в науката* и отговарят на всички изисквания на Закона за развитие на академичния състав в Република България (ЗРАСРБ), Правилника за прилагане на ЗРАСРБ и съответния Правилник на ПУ „Паисий Хилендарски“. Представените материали и дисертационни резултати **напълно** съответстват на специфичните изисквания на Биологическия факултет, приети във връзка с Правилника на ПУ за приложение на ЗРАСРБ.

Дисертационният труд показва, че докторантът Александър Христов Александров **притежава** теоретични знания и професионални умения по научна специалност Биохимия като **демонстрира** качества и умения за самостоятелно провеждане на научно изследване.

Поради гореизложеното, убедено давам своята **положителна оценка** за проведеното изследване, представено от рецензираните по-горе дисертационен труд, автореферат, постигнати резултати и приноси, и **предлагам на почитаемото научно жури да присъди образователната и научна степен ‘доктор’** на Александър Христов Александров в област на висше образование: 4. Природни науки, математика и информатика, професионално направление 4.3 Биологически науки, докторска програма **Биохимия**.

15.04.2020 г.

Изготвил становището:

(доц. д-р Тонка Василева)