

РЕЦЕНЗИЯ

от проф. д-р Василий Щерев Ишев, Медицински университет – Пловдив, пенсионер, област на висше образование: 4. Природни науки, математика и информатика, професионално направление: 4.3. Биологични науки (Биология)

Със Заповед № Р33-1176/06.03.2020 г. на Ректора на Пловдивски университет „Паисий Хилендарски“ съм определен за член на Научно жури по процедура за защита на дисертационен труд за присъждане на образователна и научна степен „доктор“

Област на висше образование: 4. Природни науки, математика и информатика

Професионално направление: 4.3. Биологични науки

Докторска програма: Биохимия

Автор: Александър Христов Александров

Тема: „Ефект на пребиотични олигозахариди върху човешкото здраве“

Научен ръководител: проф. д-р Илия Илиев, Пловдивски университет „Паисий Хилендарски“, област на висше образование: 4. Природни науки, математика и информатика, професионално направление: 4.3. Биологични науки (Биохимия).

1. Общо описание на представените материали

Представеният от Александър Христов Александров дисертационен труд съдържа научни и научно-приложни резултати, които представляват оригинален принос в науката и отговаря на всички изисквания на Закона за развитие на академичния състав в Република България, Правилника за прилагането му и Правилника на ПУ „Паисий Хилендарски“ за развитие на академичния състав. Представеният на хартиен и електронен носител комплекс документи включва:

- молба до Ректора на ПУ за разкриване на процедурата за защита на дисертационен труд;
- автобиография в европейски формат;

- препис-извлечение от Протокол № 171 от 10.02.2020 г. от заседание на Катедрения съвет при Катедра „Биохимия и микробиология“;
- декларация за оригиналност и достоверност;
- справка за покриване на критериите на Биологически факултет при ПУ „Паисий Хилендарски“ по професионално направление: 4.3. Биологични науки, докторска програма: Биохимия;
- списък на публикациите, свързани с дисертационния труд;
- пълен текст на публикациите.

2. Кратки биографични данни за докторанта

- **Образование и обучение:** бакалавър по биологични науки в Университет Миделсбург, Холандия; магистър по медицинска биология и докторант по биохимия в ПУ „Паисий Хилендарски“.
- **Професионален опит:** ембриолог в МЦ Салманида-Пловдив, с дейности: лечение на безплодие *in vitro*, административни и други функции; изпълнителен директор в Биогенини ЕООД-Пловдив, с дейности: разработване и въвеждане на маркетинг стратегии, дистрибуция на медицински изделия и лекарства, банкиране на стволови клетки от кръв и пъпна връв; главен оперативен директор в МЦ Фи Хелт Пловдив АД: управленски функции.
- **Чужди езици:** свободно владее на английски език.
- **Дигитални умения:** свободно владее.
- **Научни участия и проекти и публикации:** Участие е с доклад в Балканска научна конференция, Пловдив, 2017; Три участия в проекти, финансирани от Фонд научни изследвания на ПУ; Две съвместни научни публикации през 2017 г. и 2020 г.

3. Актуалност на тематиката и целесъобразност на поставените цел и задачи

През последните години бе изяснена ролята на оксидативния стрес като рисков фактор за увреждане на сперматозоидите. Това доведе до включването на антиоксиданти при лечението на лица с нарушения в спермотогенезата. Проучванията върху препарати с антиоксидантна активност, които подобряват качеството на спермата, са изключително важни в светлината на влошаващата се в глобален мащаб мъжка фертилност. Така например, референтните стойности за оценка на нормоспермията, определяни от СЗО, биват непрекъснато снижавани: от 30 млн/мл и 50% нормално подвижни

сперматозоиди преди 50 години, понастоящем са достигнали до 15 млн/мл и 25% нормално подвижни сперматозоиди.

Тези тревожни данни показват, че **тематиката** на дисертационния труд е извънредно актуална както от научна, така и от научно-приложна гледна точка.

Цел: Изследване *in vitro* и *in vivo* на механизма на влияние на компоненти от някои растения - *Ascophyllum nodosum* (кафяво водорасло), *Tribulus terrestris* (бабини зъби), *Lucium barbarum* (годжи бери) и техния синергизъм в състава на препарата *SEANERGIX*, за подобряване на качествените показатели на човешките сперматозоиди.

За изпълнението на тази цел са формулирани пет **задачи**, свързани с получаване, количествена и качествена характеристика на изолираните компоненти от посочените растения, ефекта от въздействието им върху сперматозоидната *алфа-L-фукозидаза* и влиянието *in vivo* на препарата *SEANERGIX* върху броя и подвижността на човешките сперматозоиди. Поставените цел и задачи са целесъобразни.

4. Познаване на проблема

Докторантът познава отлично актуалното състояние на проблема и творчески анализира и оценява литературните данни. В библиографската справка са включени 140 заглавия на латиница, 35 (1/4) от които са от последните 10 години.

Литературният обзор е представен в осем раздела, в които многостранно и убедително е обоснована актуалността и значимостта на разработената тема.

Материали и методи

От методологична гледна точка подходът за решаването на поставените цел и задачи е правилен.

Използваните растителни материали са:

- изсушени и стрити на прах *кафяви водорасли*;
- екстракти от *бабини зъби* и *годжи бери*.

Изследваните еякулати са взети с информирано съгласие от пациенти на МЦ Салманида – Пловдив в периода 2017-2018 г.

Химикали и реактиви са получени от реномирани европейски фирми – *Sigma-Aldrich, Merck, Валерус, Райхим*. Sperm preparation Kit – *FertiPro Belgium*, DNA Fragmentation Kit – *Halotech DNA Spain*, а ензими и субстрати – от *Megazyme Ireland*.

Приложени са най-съвременни методи за изолиране, екстракция и пречистване на полизахариди, хроматография за определяне на монозахаридния състав, конвенционална двустепенна екстракция на полифенолни вещества, метод на *Di Matteo и сътр.* за определяне на активността на ензима *алфа-L-фукозидаза*. Семенната течност е обработвана по стандартна методика, а спермалният анализ е извършен чрез микроскопиране на нативни препарати. ДНК фрагментацията е изследвана чрез тест за дисперсия на хроматина (*SCD*). Антиоксидантният потенциал е определен *in vitro* с методи, базирани на улавяне на свободните радикали.

Ефектът от приложението на *SEANERGIX* е изследван при 32 пациенти, приемали препарата в продължение на 90 дни. Тримесечният срок е правилно определен, тъй като пълната сперматогенеза при човека – от появата чрез предшестващо делене на сперматогоний тип В до формирането на четири зрели сперматозоида е с продължителност 72 дни.

Пациентите са от семейства с безплодие. Разделени са в 2 проучвателни групи: I група – 12 човека, от които 5 с олигоспермия и II група – 20 човека, от които 6 с олигоспермия. (Групите са формирани според времевия период, в който са събирани данните.) Спермален анализ е извършван в деня 0 (преди започването на приема на препарата *SEANERGIX*), на 60-ия и на 90-ия ден.

5. Характеристика и оценка на дисертационния труд

Дисертационният труд е написан съобразно общоприетия модел и съдържа 129 стандартни машинописни страници, 18 таблици и 33 фигури. Богатият илюстративен материал онагледява резултатите и има доказателствена стойност.

Литературният обзор е написан на 37 страници. От изложението проличават задълбочените познания на автора относно оксидативния стрес, ДНК-фрагментацията и нарушенията на фините механизми на пакетирането на хроматина в хода на сперматогенезата. Разгледани са свойствата на природни продукти за подобряване оплодителната способност на сперматозоидите. Компетентно са представени най-нови данни за химичния състав и

антиоксидантните свойства на проучените растения и подробно са описани съществуващите методи за екстракция на техните биологично активни вещества.

Целта и задачите са ясно дефинирани и използваните изследователски методи са подходящи за тяхното постигане. Материалите, методите и обектите на изследване са правилно подбрани. Получените резултати са с висока степен на достоверност, следват логично и последователно поставените задачи и са много добре онагледени. Изводите са добре аргументирани и съответстват на поставените цел и задачи. Компетентното им обсъждане потвърждава отличната теоретична подготовка и аналитичните способности на докторанта. По-важните от направените изводи са:

- Основна съставка на препарата *SEANERGIX* са кафявите водорасли *Ascophyllum nodosum*, които съдържат полизахарида *фукоидан* в концентрация до 8%. В изолирания *фукоидан* съдържанието на терминална *L-фукоза* е 25%.

- Антиоксидантната активност на препарата *SEANERGIX* и на полизахаридите от *Ascophyllum nodosum* и *Lycium barbarum* е доказана по методите *FRAP* (желязо-редуцираща антиоксидантна сила) и *DPPH* (реактив за определяне на антирадикалова активност).

- Активната субстанция на *Tribulus terrestris* активира човешката *алфа-L-фукозидаза* над 200% при оптимална доза 1,875 mg/ml. Обработката в условията на стомашен сок редуцира активирането на *алфа-L-фукозидазата* до 147%.

- Лиофилизираният воден екстракт от *Lycium barbarum* в концентрации 750 микрограма/мл активира човешката *алфа-L-фукозидаза* до 151% след симулирано обработване в стомашен сок.

- Липсва синергистичен ефект на компонентите от *Lycium barbarum* и *Tribulus terrestris* върху човешка *алфа-L-фукозидаза* след симулирано обработване в стомашен сок.

- Полифенолите от *Ascophyllum nodosum* имат инхибиращ ефект върху човешка *алфа-L-фукозидаза*.

- Препаратът *SEANERGIX*, след 90-дневен прием от доброволци с репродуктивни проблеми *in vivo* води до намаляване на ДНК-фрагментацията

(средно с 6%), увеличение на общия брой сперматозоиди (средно с 21,75%) и на процента на нормокинетичните сперматозоиди (средно с 27,55%).

7. Приноси и значимост на разработката за науката и практиката

Оригинални научни приноси:

1. Доказано е активирането на човешката *алфа-L-фукозидаза* над 200% при воден екстракт на *годжи бери* и до 147% от компонентите на водния екстракт на *годжи бери* след симулирана обработка в стомашен сок.

2. Установено е активиращото действие на активната субстанция от *Tribulus terrestris* над 200% при влагане без симулирана обработка в стомашен сок и до 151% след симулирана обработка в стомашен сок.

Научни приноси с потвърдителен характер:

1. В резултат на проведените *in vivo* изследвания на компоненти от *SEANERGIX* при доброволци с репродуктивни проблеми е доказан ефекта на препарата за намаляване на оксидативния стрес в организма като цяло и в репродуктивната система, в частност.

2. В резултат на проведените *in vitro* изследвания на компоненти от *SEANERGIX* (*фукоидан* от *Ascophyllum nodosum*, активна субстанция от *Tribulus terrestris* и полизахарид от *Lycium barbarum*) е доказан техният антиоксидативен ефект и активиране процесите на сперматогенезата.

Приносите на дисертационния труд обогатяват медицинската наука и практика в особено чувствителна и обществено значима сфера.

8. Преценка на публикациите по дисертационния труд

Докторантът е представил две съвместни научни статии, на които е първи автор. Статиите съдържат фрагменти от дисертационния труд и са на високо научно ниво.

9. Лично участие на докторанта

Личното участие на докторанта в разработването на дисертационния труд и формулираните приноси е неоспоримо. Дисертационният труд е добре обмислен и прецизно осъществен. Докторантът умело анализира получените резултати в светлината на литературните данни и формулира достоверни

изводи, отчитайки възможностите за практическо приложение на установените зависимости.

10. Авторефератът като неразделна част от дисертацията, отразява в резюмиран вид основните ѝ положения и дава реална представа за проведените изследвания, получените резултати и направените изводи. Оформен е според всички изисквания и е много добре онагледен.

11. Критични забележки и препоръки

Нямам критични бележки към проведените изследвания и представения комплект материали, свързани с дисертационния труд.

12. Препоръки за бъдещо използване на дисертационните резултати и приноси

Препоръчвам да бъде иницирана кампания за разясняване на многостранните ползи от използването на препарата *SEANERGIX*.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

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

Като се основавам на гореизложеното, убедено давам своята положителна оценка за проведеното изследване, представено в рецензираните от мен дисертация, 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. Биологични науки,**

докторска програма: **Биохимия.**

20.04.2020 г.

РЕЦЕНЗЕНТ:

(Проф. д-р Василий Ишев д.м.)

