

Рецензия

от проф. Лилия Панайотова Василева – доктор

върху дисертационния труд на

Аделина Marinova Стоянова

на тема: „Високоектическа комбинация от анти-ентеровирусни инхибитори при експериментални инфекции с коксаки В вируси“

Темата на дисертацията е не само актуална, но и навременна, поради все по-нарастващата роля на ентеровирусите за причиняването на инфекции: асимптоматични и такива, протичащи с тежки клинични симптоми и висока контагиозност. Освен това високата мутагенност на ентеровирусите е отговорна и за тяхното адаптиране към неблагоприятна среда и за предизвиканите от тях разнообразни болнични прояви при инфектирани пациенти. За съжаление, въпреки многообразните изследвания на специалисти от различни страни, все още не е установен препарат за специфично лечение на заболяванията, предизвикани от ентеровирусите. Причина за това е развитието на устойчивост към изпитаните инхибитори на вирусите. Резистентността на вирусите е голям проблем за антивирусната терапия. Бих искала да отбележа, че за преодоляването на този проблем екипът, ръководен от акад. Ангел Гъльбов в Института по микробиология към БАН, е насочил изследванията си към търсенето на нови антиентеровирусни вещества и намирането на нови подходи за прилагането им. В това отношение изследванията, описани в настоящата дисертация на Аделина Стоянова, се явяват като продължение на усилията на акад. Гъльбов – научния ръководител на дисертантката, и неговия екип – но и като изследвания на нов подход за ефективно комбинирано прилагане на антиентеровирусни вещества.

Дисертацията започва със задължителните за всяка обемна работа съдържание и описание на използваните съкращения. Следва увод с 2 и 1/3 стр. с кратка характеристика на ентеровирусите и усилията на екипа за разработването на нов метод за комбинирано прилагане на антиентеровирусни вещества.

Литературният обзор от 63 стр. засяга значението на ентеровирусите за човешката патология, най-подробна съвременна класификация на сем. *Picornaviridae* и принадлежащите към него видове, структура на вирионите, организация на вирусния геном, репликация на вирусите с описание на всички цикли; репликация и транслация на вирусната РНК, процесинг на предшественика полипротеин; сглобяване на

вирионите. Авторката разглежда също изчерпателно видовете инхибитори и то във връзка с отделните фази на репликация на вирусите, като е отделила специално тези, включени в настоящата дисертация; лекарствената резистентност и комбинираната химиотерапия. Освен изчерпателност, литературният обзор на Стоянова е изпъстрен с нагледно представяне и систематизирани процесите на репликация на вирусите чрез цветни фигури (9 от 10) и 6 таблици. От изложението в литературния обзор проличава отличната осведоменост на дисертантката по темата, която разработва.

Разделът „Собствени изследвания“ започва с ясно формулирана цел на изследването. За изпълнението на тази цел авторката представя 6 задачи, в 1 и ½ стр.

Използваните материали и приложените методи са добре описани в 15 стр. включващи 2 таблици. Единствено само описанието на вирусните щамове е доста лаконично. Всички методи са съвременни вирусологични и биохимични, а за достоверност на резултатите са прилагани статистически модели и програми. Дадени са формулите на използваните съединения, както и тези за изчисляване индекса на защита и средното време на преживяемост.

Разделът „Резултати“ започва с колегиално, добре изразено цитиране на извършените до настоящата дисертация изследвания за комбинирани ефекти на антиентеровирусни съединения с различен механизъм на действие, извършени под ръководството на акад. Гъльбов от други негови сътрудници. При тези изследвания са използвани комбинации от 2 съединения, а в случаите на тройна комбинация, то тя е съставена от съединения различни от тези участващи в настоящата дисертация комбинации. Намирам, че посоченият абзац е много уместно представен, независимо къде точно ще се напише.

Получените от дисертантката резултати са правилно последователно представени в 72 стр., включващи 30 таблици и 41 фигури, половината от които цветни. Анализът на резултатите ми дава основание да отбележа, че те са получени след огромна по обем, прецизна експериментална работа на дисертантката, включващи работа в бокса на лабораторията и във вивариума с лабораторни животни. Всички резултати са изведени от 3-кратно изпълнение при задължителното използване на контроли. Като отличен завършек на опитите поставям фенотипната характеристика на вирусните изолати от органите на опитните животни и генотипната характеристика на вирусните изолати от мозъците на животните, заразени с вирус и тези изолати от

животните след лечебния курс. Резултатите показват, че в изследваните преби не са установени делеции или инсерции, а само замени в нуклеотидните и аминокиселинните последователности при сравняване с данните, получени за плацебо четвърти ден. Въпреки ограничеността на проведените изследвания на генотипната характеристика извършени само за CV-B1 при монотерапия с плеконарил и MDL-860, както и само за тройната комбинация плеконарил/MDL-860/оксоглауцин, те са от значение за изясняване процесите на резистентност и чувствителност на ентеровирусите към антивирусни вещества.

Разделът „Обсъждане“ обхваща 13 стр. Дисертантката отново изтъква значимостта на ентеровирусите и причинените от тях инфекции, както и възможностите за лечение на тези инфекции. От изложението проличава компетентността на Аделина Стоянова към посочените проблеми. Най- подробно са изложени литературни данни за ефективност на плеконарила, тъй като това съединение са прилага за първи път у нас. Изяснени са и причините, водещи до появата на резистентност, както и оптималният начин за ~~получаване на~~ ограничаване на резистентността при терапията на вирусните инфекции. И тук авторката отбележава успехите на акад. Ангел Гъльбов и ръководените от него екипи при изпитването на комбинации от антивирусни вещества с различен механизъм на действие и въвеждането на нов високоэффективен подход за прилагане на антивирусни средства, отличаващо се от стандартното едновременно прилагане на антивиралите. Своите резултати от проведените изследвания Стоянова обсъжда и с тези, получени от други изследователи. Предимството на новия подход за прилагане на антивирусни средства е също така обсъждан. Дисертантката много компетентно обсъжда резултатите от генотипната характеристика на вирусното потомство, получено от органите на третираните животни в сравнение с тези от плацебо.

Дисертационният труд завършва с 7 извода, които са формулирани правилно и дават основание за изтъкването на 2 приноса, с които съм съгласна. Към тези два приноса бих прибавила още един – получените промени в чувствителността на вируса, изолиран от третираните с комбинациите животни към съединенията-партньори.

Списъкът с литературата обхваща 362 авторски заглавия, дадени с пълен текст. Във връзка с дисертационните изследвания авторката Стоянова има 4 публикации на

английски език във водещи вирусологични и микробиологични списания. Две от тези публикации са цитирани по един път.

Към резултатите от дисертационния труд нямам забележки -- както по отношение на получаването им, така и към представянето им. По отношение на оформянето на дисертацията имам някои бележки: съединението 2-(3,4-дихлорофенокси)-5-нитробензонитрил, DNB, се използва правилно съкратено - MDL-860, неговата формула и молекулна маса са дадени правилно в раздела „Материали и методи“. Все пак, в списъка на съкращенията би трябвало да се отбележи и това съединение. Някои литературни данни са обсъждани, както в раздел „Резултати“, така и в раздел „Обсъждане“.

Авторефератът на дисертацията е съставен и написан прецизно, и отразява коректно дисертационния труд.

Лични впечатления: познавам докторантката Аделина Маринова Стоянова от самото ѝ назначаване в Департамента по вирусология през 2010 г. Била съм член на жури при изпитването ѝ като докторант. Тя е един скромен, много работлив специалист, владеещ отлично вирусологията, знаещ английски и имащ компютърни познания. Стоянова се справя еднакво добре, както при работа в лабораторния бокс, така и във вивариума с опитните животни. Огромната работа по разработването и представянето на дисертацията е още едно доказателство за нейната работоспособност и отлично владеене на проблемите при вирусите, свързани с опитите за преодоляването им. За мен Аделина Стоянова е млад, перспективен научен сътрудник с отлични качества.

Заключение: В дисертационния труд на Аделина Стоянова се разглежда много важен въпрос от вирусологията: преодоляване на лекарствената резистентност на вирусите и по-точно на ентеровирусите, които имат голямо значение в човешката патология. Целта на разработката в дисертационния труд и задачите за осъществяването ѝ са правилно формулирани.

Резултатите са постигнати със съвременни вирусологични и биохимични методи, статистически обработени, нагледно представени в таблици и фигури, при това цветни, което създава отлични впечатления у всеки, запознал се с дисертацията. Резултатите са оригинални – получени чрез въвеждане нов подход за комбинирано прилагане на антивирусни вещества за химиотерапия на коксаки B-1 и B-3 вируси, а

именно последователно, редуващо се прилагане на комбинация от три антивирусни съединения. Този подход е създаден от акад. Ангел Гълъбов и неговите екипи в Института по микробиология към БАН. Като продължение на досегашните изследвания на екипите на акад. А. Гълъбов се явява и тази дисертация под негово ръководство, при която се използват не двойни, а тройни комбинации от антивирусни съединения с различен механизъм на действие. Резултатите дават основание да се изтъкнат и приносите им. Дисертантката има три публикации във водещи вирусологични и микробиологични списания, както и 26 участия в научни прояви. По темата на дисертационния труд Аделина Стоянова е получила 3 награди: най-добра работа на млад микробиолог за 2015 година; трета награда за най-добър постер на конгрес по микробиология 2017 г. и диплом за „Най-добра публикация“ (втора награда), във връзка със 150-та годишнина на БАН.

Давам висока оценка на дисертационния труд и предлагам на Почитаемото жури по провеждане на защитата на дисертационния труд: “Високоефективна комбинация от анти-ентеровирусни инхибитори при експериментални инфекции с коксаки В вируси“ да одобри дисертацията и присъди на Аделина Маринова Стоянова образователната и научна степен „Доктор“.

Рецензент:

София, 12.VI.2019 г.

/проф. Л. Василева/