РЕЦЕНЗИЯ

от

проф. д-р Диана Георгиева Иванова, дбн
Катедра по биохимия, молекулна медицина и нутригеномика,
Факултет по фармация при Медицински университет „Проф. д-р П. Стоянов" – Варна.

Относно: Дисертационен труд на тема „Сравнително проучване биологичните ефекти на природни хранителни източници на сяра върху човешки интестинални клетки", изготвен и представен от: Стефка Маринова Стоева, докторант в редовна форма на обучение по докторска програма „Биохимия", професионално направление 4.3. „Биологически науки", Факултет по фармация при Медицински университет „Проф. д-р Параскев Стоянов" - Варна, за придобиване на ОНС „Доктор".

1. ОБЩО ПРЕДСТАВЯНЕ НА ПРОЦЕДУРАТА И ДОКТОРАНТА

Със Заповед № Р-109-320/25.09.2026 г. на Ректора на Медицински университет „Проф. д-р Параскев Стоянов" - Варна (МУ-Варна) съм назначена за член на научно жури по процедура за придобиване на ОНС „Доктор" по специалност „Биохимия", професионално направление 4.3. Биологически науки и съм определена да изготвя рецензия.

Автор на дисертационния труд е Стефка Маринова Стоева, докторант в редовна форма на обучение в докторска програма по „Биохимия" към Катедрата по биохимия, молекулна медицина и нутригеномика, при Факултета по фармация на Медицински университет „Проф. д-р Параскев Стоянов" – Варна с научен ръководител доц. д-р Милка Аспарухова Нашар от същата катедра.

За изготвяне на рецензията получих материалите, изискващи се от Правилника за условията и реда за придобиване на научни степени заемане на академични длъжности в МУ – Варна, а именно:

- ✓ Заявление до ректора за разкриване на процедура по защита;
- ✓ Автобиография;
- ✓ Протоколи за докторантски минимуми по биохимия и по чужд език;
- ✓ Протокол от КС за отчисляване;
- ✓ Заповеди за зачисляване и за отчисляване;
- ✓ Автореферат и дисертация;
- ✓ Декларации за оригиналност и за достоверност на приложените документи;
- ✓ Справка за сходство и справка за наличие на актуален профил;
- ✓ Списък и копия на публикациите свързани с темата на дисертационния труд;

- ✓ Списъци на участията в научни форуми, обучения и семинари и за участия в проекти;
- ✓ Сертификати.

Оценката ми се основава на изискванията на Закона за развитие на академичния състав в РБългария, Правилника за неговото прилагане и Правилника за развитието на академичния състав в МУ-Варна. Представените документи покриват изискванията на горните нормативни актове.

Докторантката Стефка Маринова Стоева е родена в гр. Генерал Тошево, общ. Добрич, където завършва средното си образование. През 1984 г. завършва средно специално образование за медицинска сестра в ИПЗК „Д-р Н. Николаев“ – Варна. През 1994 г. е завършила висше образование в Софийски университет „Св. Кл. Охридски“ с придобита ОКС „Магистър" по биохимия и микробиология и специализация по физиология на животните и човека, а през 2004 г. – Медицински колеж на Медицински университет „Проф. д-р Параскев Стоянов“ – Варна ОКС „Бакалавър“ - медицинска сестра.

В периода 1986—1989 г. и през 1995 г. работи като медицинска сестра последователно в ОРКБ Добрич и в ДИБА-КВБ, Клиника по хематология в гр. София, а от 1995 до 2000 г. - като биохимик в IV Диагностично-консултативен център, Клинична лаборатория, гр. Варна. От 2001 г. и до момента Стефка Стоева заема длъжността биохимик в Катедрата по биохимия, молекулна медицина и нутригеномика на Факултета по фармация при Медицински университет „Проф. д-р П. Стоянов” – Варна. Със заповед № Р-109-282 от 08.07.2021 г. е зачислена като редовен докторант към същата катедра. Отчислена е от докторантура с право на защита със заповед Р-109-249/20.07.2026 г. след успешно премината вътрешна защита.

2. ОБЩА ХАРАКТЕРИСТИКА НА ДИСЕРТАЦИОННИЯ ТРУД

2.1. Актуалност на тематиката

Настоящото проучване е насочено към сравнителна оценка на биологичните ефекти на различни природни източници на сяра съдържащи биологично активни съединения – разнообразни храни и минерални води със специфичен състав, включващ серни съединения, каквато е минералната вода от Варненския басейн. Изследванията са провеждани ин витро върху човешки интестинални епителни клетки.

Разнообразието от биоактивни молекули от растителен произход, определя традиционната употреба на растенията в различни култури като средство за превенция и терапия. Специфични растителни видове, като представителите на род *Brassica* и род *Allium*, синтезират уникални сяра съдържащи съединения - вторични метаболити, които активират

ендогенните защитни системи на организма срещу оксидативен стрес и възпаление. Чрез регулиране на ключови сигнални пътища растителните фитохимикали подпомагат клетъчната адаптация и поддържането на тъканната хомеостаза.

Сяра съдържащите (сулфидни и сулфатни) минерални води упражняват своите физиологични ефекти чрез комбинация от химични, термични и механични фактори. Основният биоактивен агент в тях е разтвореният свободен водороден сулфид H_2S, както и хидросулфидните HS^- и сулфатните SO_4^{2-} йони. H_2S е третият познат ендогенен газотрансмитер (наред с NO и CO) и притежава изключителна липофилност, което му позволява бързо да преминава през биологичните мембрани (включително кожната бариера и лигавиците). Значението на тези изследвания е особено голямо за Варна, защото техен обект е природен ресурс, който е непосредствено достъпен и традиционно се използва от жителите и гостите на града. Натрупаните научни данни създават основа за продължаване на изследванията и за научно обосновано популяризиране на минералните води като част от природния и здравния потенциал на града. Това създава предпоставки за по-нататъшни интердисциплинарни проучвания в областта на профилактиката, балнеологията и здравния туризъм.

Всичко изложено по-горе дава основание да се твърди, че темата на дисертационния труд е актуална, значима и с висок приложен потенциал.

2.2. Цел и задачи

Целта на дисертационния труд е ясно формулирана въз основа на анализ на известното, неяснотите и празнотите в настоящите знания по проблема. Изследователската работа за постигането на целта - „да извърши сравнителен анализ на биологичните ефекти на природни хранителни източници на сяра в базални условия и в условията на ЛПЗ-индуцирано възпаление в човешки интестинални епителни клетки“ - е логично структурирана в три основни изследователски задачи, позволяващи да се получат данни и извърши сравнителен анализ на противовъзпалителния, антиоксидантен и адаптогенен профил на изследваните източници на сяра, както и как те влияят върху процесите на детоксикация.

2.3. Обем и структура

Дисертационният труд е в общ обем от 154 страници и е структуриран в обичайните и препоръчвани за дисертационен труд за ОНС „Доктор" раздели - въведение, литературен обзор, цели и задачи, материали и методи, резултати, дискусия, заключение, изводи, приноси, използвана литература. Изложението е в издържан научен стил, ясно и четивно. Добре го допълват и илюстрират 73 фигури, 2 схеми 1 снимка и 6 таблици. Списъкът с

използвана литература съдържа 298 заглавия, от които 2 на кирилица и останалите 296 - на латиница.

2.4. Финансиране

Експерименталната работа по дисертационния труд е финансирана от Фонд „Наука“, на Медицински университет – Варна, Проект № 22003 „*Сравнително проучване биологичните ефекти на природни хранителни източници на сяра върху човешки интестинални клетки*“.

3. ХАРАКТЕРИСТИКА И ОЦЕНКА НА ДИСЕРТАЦИОННИЯ ТРУД И ПРИНОСИТЕ

3.1. Литературен обзор

Литературният обзор се основава на съвременни литературни източници и в него докторантката максимално всеобхватно и задълбочено представя достъпното по литературни източници познание за сярата като биогенен елемент, охарактеризира сярасъдържащите минерални води (възприето и употребявано по нататък в текста като серни води), произхода и биологичните ефекти на сулфорафана, алиина и таурина, извеждайки научния проблем и необходимостта от допълнителни сравнителни изследвания. Обзорът съдържа и дял, в който подробно се разглеждат възможностите за използването на адхезивната клетъчна линия от човешки чревни епителни клетки (Human intestine epithelial cells, HIEC-6 клетки) като клетъчен модел за скрининг на биологичните ефекти на храни и води.

Считам, че литературният обзор осигурява необходимите основа и контекст за разбиране на целта, задачите и хипотезите на предприетото проучване. Сравнителният дизайн позволява да бъдат оценени сходства и различия между изследваните агенти, без предварително да се приема идентичност на механизмите им на действие. Докторантката демонстрира отлично познаване на научната литература по проблема и умения да селектира, систематизира и анализира научна информация.

3.2. Изследователска методология

Методологията се отличава с детайлно и компетентно представяне на процеса на проучването. Докторантката е използвала надеждни и достатъчни за постигане на поставената цел методи изследване и стандартизирания и въведен по-рано в Лабораторията по нутригеномика модел на ЛПЗ-индуцирано възпаление при HIEC-6 клетъчната линия, закупена от Американската колекция за типови култури (ATCC® CRL3266™). След тестовете за цитотоксичност, определянето на нивото на генна експресия на 14 гена дава отговора на задачите, решавани в дисертационния труд чрез сравнителен

анализ на противовъзпалителния, антиоксидантен и адаптогенен профил на изследваните източници на сяра.

Статистическите методи са подходящо подбрани с информативност необходима за изследването. Анализът на промените в генната експресия е извършван по метода 2^−ΔΔCt, като резултатите са представени като относителни единици mRNA (relative units, RU). Относителната експресия на таргетните гени е определена чрез сравнение с нетретираните клетки (контрола, К), при които нивото на генната експресия условно е прието за 1. Като ендогенни контроли са използвани гените за β-актин (ACTB) и RPLP0.

Всички проби са анализирани в три независими технически повторения, като за статистическия анализ са използвани средните стойности. Данните са представени като средна стойност ± стандартна грешка на средната стойност (Mean ± SEM) за експресиите или средна стойност ± стандартно отклонение (Mean ± SD) при MTT теста. Корелационните анализи са извършени с GraphPad Prism 10.0 чрез корелационни матрици на Пиарсън, визуализация тип „топлинна карта“ (heatmap). Корелационните анализи са използвани за оценка на сходствата в профилите на генна експресия при различните експериментални условия. Различията между групите се приемат за статистически значими при ниво на достоверност $p \leq 0,05$.

3.3. Резултати и анализ

Резултатите са ясно, подробно и последователно представени. Анализът им е съотнесен към наличните в научната литература данни, а при обсъждането им докторантката демонстрира аналитично и критично мислене. Дискусията е стегната, като е избягвано прекомерното и необоснованото тълкуване. Таблиците са добре организирани. Фигурите и схемите добре илюстрират резултатите и допълнително способстват за разбирането им.

В използвания експериментален модел сярната минерална вода, сулфорафанът, алиинът и тауринът запазват клетъчната жизненост в изследваните концентрационни диапазони, което позволява последващ анализ на техните биологични ефекти. Получените данни за жизнеността на използваните човешки чревни епителни HIEC-6 клетки осигуряват експериментална основа за интерпретацията на последващите промени в генната експресия, които могат да бъдат съотнесени към ефектите на евентуален прием на сяра съдържащи минерални води и храни.

Установява се, че изследваните природни източници на сяра се различават по своята способност да модулират възпалителния отговор в човешките интестинални епителни клетки. Сярната минерална вода проявява широк спектър на въздействие върху експресията на основни гени за провъзпалителни маркери, което очертава нейния

потенциал да влияе върху молекулните механизми, свързани с клетъчния възпалителен отговор. Очаквано, сулфорафанът оказва най-съществено влияние върху експресията на гените, участващи в антиоксидантната защита и клетъчната адаптация, докато ефектите на таурина и алиина върху тези сигнални пътища са по-ограничени и зависят в по-голяма степен от приложената концентрация. Сярната минерална вода, наред с влиянието си върху провъзпалителните медиатори, променя в положителна посока и експресията на гени, свързани с антиоксидантния отговор. Изследваните източници на сяра проявяват различна селективност по отношение на експресията на сулфотрансферазите, като сярната минерална вода повлиява предимно експресията на SULT1A1, докато сулфорафанът и алиинът оказват по-изразено въздействие върху SULT1A3. Най-устойчивата експресионна зависимост е Nrf2/GPx, като тя е положителна и се изменят в една и съща посока при всички изследвани третирания, както в нестимулирани клетки, така и в условията на ЛПЗ-индуцирано възпаление. Обратно, NF-κB и Nrf2 показват последователна отрицателна зависимост във всички матрици. Тези резултати подкрепят наличието на координирани експресионни профили, чието проявление зависи от природата на агента и клетъчното състояние.

3.4. Оценка на приносите

Приемам самооценката на докторантката за приносите на дисертационния и труд - два с оригинален характер, един с приложен и един с потвърдителен характер. Ще откроя, че това са първите получени ин витро експериментални данни за ефектите на сяра съдържащата минерална вода от Варненския басейн върху експресията на гени, свързани с възпалителния и редокс-свързания клетъчен отговор и биотрансформацията в HIEC-6 интестинални клетки и в модел на ЛПЗ-стимулиран имунен отговор в HIEC-6 клетки. В допълнение, познанията за молекулярните ефекти на слабо проучения органосулфид алиин са разширени и е установен потенциалът му да модулира експресията на гени, свързани с възпалителния и редокс-свързания клетъчен отговор и биотрансформацията. Разработен и приложен е сравнителен клетъчен подход за предварителна оценка на молекулярните ефекти на природни източници на сяра в HIEC-6 клетки при базални и ЛПЗ-стимулирани условия. Получените резултати за сулфорафана и таурина допълват и подкрепят наличните литературни данни за влиянието им върху експресията на гени, свързани с възпалителния и редокс-свързания клетъчен отговор.

4. ОЦЕНКА НА ПУБЛИКАЦИИТЕ ВЪВ ВРЪЗКА С ДИСЕРТАЦИОННИЯ ТРУД

Резултатите от дисертационния труд са отразени в две научни публикации и шест научни съобщения, което свидетелства за успешно популяризиране на научните и научноприложните приноси на разработката, при това на страниците на авторитетни списания. Една публикация е в *Journal of IMAB* (Web of Science, IF 0.2) и една, в която

докторантката е първи автор, във *Pharmacia* (Web of Science, IF 1.5). Три от резюметата са от научни съобщения, докладвани на Европейски и световни конгреси, а в четири от публикуваните научни съобщения докторантката е първи автор.

5. КРИТИЧНИ БЕЛЕЖКИ И ПРЕПОРЪКИ

Препоръчвам разширяване на обхвата на изследването и по отношение на детекция на изследваните цитокини и транскрипционни фактори, регулиращи ДНК транскрипцията като част от възпалителните процеси, имунния отговор, поддържане на редокс баланса в клетките и с роля при биотрансформациите. Очаквах в литературния обзор да има текст и обосновка по отношение на изследваните гени, както и да бъде направена връзката между регулацията на редокс хомеостазата и процесите на детоксикация и как те се вписват в използвания ЛПЗ-индуциран модел на възпалителен отговор.

6. ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Представеният дисертационен труд е завършено, самостоятелно и методологично издържано научно изследване с отчетлива научна стойност и безспорни приноси - допринася за изясняване на биологичната значимост на сяра съдържащите храни и води и потенциала им да влияят върху сигнални пътища свързани с регулацията на редокс статуса, възпалението, адаптацията при стрес, както и върху ензимите участващи в процесите на детоксикация.

Докторантката демонстрира необходимите научни знания и умения за осъществяване на самостоятелна научна дейност - от оценката на значимостта на научен проблем, през формулирането на научна идея, до постановка, планиране и осъществяване на изследвания, с критичен анализ на получените резултати. Направените от мен препоръки и забележки по никакъв начин не намаляват достойнствата на дисертационният труд. Дисертационният труд отговаря на изискванията на Закона за развитие на академичния състав в РБ, Правилника за неговото прилагане и Правилника за развитието на академичния състав в МУ-Варна. С оглед на гореизложеното давам положителна оценка на дисертационния труд и качествата на докторанта и гласувам „ЗА" присъждане на ОНС „Доктор“ по специалност „Биохимия“, професионално направление 4.3. „Биологически науки“, на Стефка Маринова Стоева.

Заличено на основание чл. 5, §1, б. „В“ от Регламент (ЕС) 2016/679

проф. д-р Диана Георгие

21.10.2026 г.