

## РЕЦЕНЗИЯ

от Проф. д-р Недка Любомирова Трифонова, дм, Катедра по биология  
при Медицински факултет, Медицински Университет – София

определена за член на научно жури по процедура за защита на дисертационен труд  
със заповед № РК36-1266/24.07.2018 г. на Ректора на МУ – София

**Относно:** дисертационен труд за присъждане на образователната и научна степен “доктор”

**Професионално направление 4.1. “Физически науки”, Докторска програма: Биофизика**

**Автор:** Благовест Георгиев Бечев

**Форма на докторантурата** – докторант на самостоятелна подготовка

**Катедра** “Медицинска физика и биофизика”, МФ, МУ-София

**Тема:** “Развитие и приложение на методите за клетъчна хемилуминесценция за изследване функционалното състояние на фагоцитиращи клетки в биологични течности”

**Научен ръководител:** Проф. Трайко Тодоров Трайков, дх

### Общо описание на представените материали

Представеният ми комплект материали на хартиен/електронен носител е в съответствие с Процедурата за придобиване на ОНС „доктор“, съобразно ЗРАСРБ и Правилника на МУ – София и включва всички необходими документи: дисертационен труд; автореферат; препис-извлечение от протокола на заседанието на катедрения съвет с решение за даване ход на официална защита; нотариално заверено копие от диплома за висше образование; автобиография – европейски формат с подпис на докторанта; списък на публикациите и участията в научни форуми, свързани с дисертационния труд, подписани от докторанта; справка за намерените цитирания на публикациите, свързани с дисертационния труд; копия на протоколите от положените изпити за докторантски минимум; декларация за оригиналност и достоверност на приложените документи.

Дисертационният труд е разработен под ръководството на Проф. Трайко Трайков, дх., Катедра по медицинска физика и биофизика към Медицински факултет на МУ – София. Написан е на 118 компютърни страници, онагледен е с 36 фигури, 10 таблици и включва: въведение, литературен обзор, материали и методи, резултати и дискусия, изводи, приноси, списък на публикациите на автора, свързани с дисертационния труд, забелязаните от него

цитирания, библиография, рационализации и научни проекти, подпомогнали разработването на дисертационния труд.

### **Кратки биографични данни за докторанта**

Благовест Георгиев Бечев е роден на 16. 04. 1956 год. Завършва математическа гимназия в град Плевен и магистърска степен на Физическия факултет на Софийския университет "Св. Климент Охридски", специалност радиофизика и електроника. От 1981 до 1982 година работи в "Институт по полупроводникова техника" в Ботевград. През 1982 г. след успешно издържан конкурсен изпит е избран за асистент по физика в Медицинския университет гр. Плевен и последователно преминава йерархичния път от асистент до главен асистент. Преподава медицинска физика и биофизика на студенти по медицина и информатика на студенти по специалността "Здравни грижи". Участва в научен екип, който разработва във връзка с проект към "Отворено общество" един от първите в страната софтуер за обслужване цялостната дейност на общопрактикуващ лекар или специалист. От 2004 година е преподавател в Катедрата по медицинска физика и биофизика", МФ, МУ-София, където преподава медицинска физика на студенти по медицина, дентална медицина и фармация и на медицински сестри и лаборанти в Медицински колеж, Враца. Благовест Бечев е изграден преподавател със СДО специалност по "Медицинска и санитарна физика".

### **Актуалност и значимост на тематиката**

Дисертационен труд развива и прилага хемилуминесцентни методи за изследване функционалното състояние на фагоцити в кръв и плеврален пунктат, като за това се разработват съответни апаратни и софтуерни средства. Поради високата си чувствителност и използването на относително по-евтина апаратура хемилуминесценцията е метод, който напоследък навлиза широко в медико-биологичните изследвания и клиничната медицина.

Актуалността на темата се определя от няколко факта: 1. Основният обект на хемилуминесцентното изследване в дисертационния труд са неутрофилите, които през последните десетина години са във фокуса на редица имунологични проучвания. С използването на модерни молекулни техники бяха разкрити нови данни за техните мембранни и цитозолни рецептори и съответните им лиганди - структури, характерни за микроорганизми и синтезирани от гостоприемника молекули, чиято локализация и сила на

експресия е резултат на клетъчно увреждане; механизмите на придвижването им към огнището на инфекция или мястото на тъканно увреждане; ролята им в процесите на фагоцитиране и убиване на патогените чрез активиране на протеолитични ензими и ензими, произвеждащи токсични супероксидни аниони, активни форми на кислорода, както и активни форми на NO – NOO<sup>•</sup>. Хвърлена бе и повече светлина за ролята на фагоцитите при насочването на адаптивния имунен отговор към тип, осигуряващ ефективен механизъм за елиминиране на конкретния патоген, увредена тъкан или туморни клетки. 2. Изследват се неутрофили от биологични течности, основно плеврален пунктат при заболявания на плеврата, чиято значимост бързо нараства. 3. Разработва се високо чувствителен метод, който навлиза бързо и широко в различни медикобиологични и клинични изследвания.

### **Анализ на дисертационния труд**

От задълбочения **литературния обзор**, изложен на 23 страници, личи много добро познаване на проблема и цитираната литература, която обхваща 111 литературни източника (101 на латиница и 10 на кирилица), 22 от които са от последните 10 години.

Авторът детайлно анализира литературните източници и насочва вниманието към ключовата роля на неутрофилите във врождения и придобит имунитет и засиления интерес към тях през последните десетина години. Б. Бечев задълбочено разглежда молекулните механизми на елиминиране на патогени, увредени собствени клетки или собствени молекули, с променена експресия. Той изтъква, че един от основните методи за количествена оценка на активността на редица типове клетки (ПМН, алвеоларни и перитонеални макрофаги и др.) е количественото определяне на производството на активни форми на кислорода и на дегранулацията чрез клетъчна хемилуминесценция. Липсата на достатъчно изследвания за количествена оценка на функционалното състояние на фагоцитите, което е важно за диагностиката и правилното лечение на значими за страната ни заболявания, мотивират **целта на дисертационния труд**, която е изведена в заглавието на дисертацията. Реализацията на тази цел е обоснована в пет ясно и точно формулирани конкретни **задачи**: създаване на апаратни, хардуерни и софтуерни средства, необходими за интегрални и спектрални хемилуминесцентни изследвания; развитие и усъвършенстване на *in vitro* методики за изследване на функционалното състояние на левкоцити в цялостна кръв чрез сенсibiliзирана хемилуминесценция и приложението им; спектрални хемилуминесцентни

изследвания на функционалното състояние на изолирани полиморфонуклеарни клетки и левкоцитите в цялостна кръв; разработване на система за *in vivo* / *in vitro* мониторинг на хемилуминесценция в кръвен поток и апробирането ѝ, както и създаване на *in vitro* методика за изследване функционалното състояние на левкоцитите в плеврални изливи и приложението ѝ за диагностика.

На базата на познанията и уменията в областта на имунологията, пулмологията, електрониката и софтуера авторът изпълнява отлично поставената цел и конкретните задачи.

Разделът **“Материал и методи”** е изложен на 11 страници. Докторантът правилно е подбрал и акуратно описал методите, които обслужват поставените задачи. Изследвани са биологични материали – кръв и плеврална течност от пациенти с поставени от клиницисти диагнози. Докторантът е разработил работна карта, в която се нанасят данните за пациента, резултатите от параклиничните изследвания на кръв, храчка и пунктат. Подробно са описани използваните реагенти. Особено внимание е отделено на описанието на хемилуминесцентните методи. Част от методиките са разработени от автора и са изнесени в главата Резултати и дискусия. Давам висока оценка на този раздел.

Получените **резултати** са систематизирани в 6 основни глави, изложени на 51 страници и са онагледени с 36 фигури и 10 таблици. Опитите са изпълнени прецизно, описани акуратно и умело обсъдени. Анализирани са функционалното състояние на неутрофили в биологични течности чрез развити и усъвършенствани от автора различни хемилуминесцентни методики. Разработеният компютърен луминометър се характеризира с висока чувствителност и с възможност за спектрални измервания на свръхслаба хемилуминесценция, което прави метода високо чувствителен. Усъвършенствана е методиката за изследване на функционалното състояние на левкоцитите в цяла кръв чрез луминол активирана хемилуминесценция, което разширява диапазона на изследваните пациенти.

Апробирането на разработените системи за *in vivo* / *in vitro* мониторинг хемилуминесценция в кръвен поток насочват към множество възможни приложения. Създадена е методика за изследване на функционалното състояние на полиморфонуклеарните левкоцити в плеврални изливи. Анализирани са получените хемилуминесцентни кинетични отговори на Zymosan стимулирани левкоцити. Методиката е апробирана за клинично приложение в пилотно изследване на относително малък брой пациенти.

Авторът отбелязва, че за разделянето на трансудати от ексудати в бъдеще, е необходимо да се провери класифициращата способност на намерената дискриминираща функция при нови случаи, евентуално да се уточни дискриминиращата функция и настрои a priori probabilities (в случая те са използвали a priori probabilities да е равна на пропорцията на трансудати към ексудати). Изключително високата чувствителност на използваните хемилуминесцентни методи, ниската цена за тест и относително проста и немного скъпа екипировка биха допринесли за по-бързо изясняване на диагнозата, по-адекватно лечение, за оценка активността на някои патологични процеси.

### **Оценка на приносите на дисертационния труд**

Съгласна съм с посочените реални приноси с оригинален, потвърдителен и научно-приложен характер. Смятам, че вай-съществените от тях са: методиката за изследване на различните функционални състояния на полиморфонуклеарните клетки в плеврална течност за определяне типа на излива; усъвършенстваната методика за изследване на функционалното състояние на левкоцитите в цяла кръв с разширен диапазон за нормиране спрямо броя на полиморфонуклеарните и червени кръвни клетки, позволяващо изследването на пациенти с neutropenia, на трансудати, на проби със силно намален брой ПМН и силно вариращ брой еритроцити; системата за in vivo мониториране на хемилуминесценцията в кръвен поток, която дава връзка между моментното функционално състояние на популацията на полиморфоядрените клетки и на имунния отговор.

Нямам съществени забележки към работата на дисертанта, тъй като той се е съобразил след вътрешната защита с повечето, направени от мен, основно технически забележки и някои препоръки. Допуснатите механични неточности и печатни грешки в никакъв случай не омаловажават високата стойност на разработения труд.

### **Оценка на личното участие на дисертанта в разработването на дисертационния труд.**

Убедена съм в огромния личен принос на докторанта в дисертационния му труд. Той доказва активирането на фагоцитите с използването на проектиран за целта от него в екип с М. Магрисо, П. Бочев и М. Дилковска хемилуминометър. Авторите разработват апарата след предварително проведен задълбочен анализ на предлаганите на търговския пазар хемилуминометри. Детайлното описание на методите в главата "Материал и методи" показва,

че Б. Бечев владее прекрасно използваните от него методи. Той описва убедително получените резултати, умело ги анализира, докладва на научни форуми и публикува статии в реномирани списания.

### **Научни трудове, отразени в дисертацията и наукометрични показатели**

Благовест Бечев покрива напълно критериите за докторант в медико-биологичните дисциплини на МУ – София. Той е представил резултати от дисертацията си на 6 международни и 19 национални научни форуми; има 6 публикации, като 4 от тях са с IF (общ IF=7,767 и индивидуален IF=2,389), на две от които е първи автор. Бечев има 3 рационализации, свързани с разработването на хемилуминометър с компютърна обработка и анализ на данни и за спектрални луминесцентни измервания и 2 научни проекта, касаещи приложението на хемилуминесцентен метод за изследване функционалното състояние на неутрофилите на пациенти с различна патология.

**Авторефератът** отговаря на изискванията на МФ, МУ-София. Той отразява основните резултати, постигнати в дисертационния труд и изводите, произтичащи от тях. Посочени са приносите. и нямам забележки. Би могло да се намали обемът му.

### **ЗАКЛЮЧЕНИЕ**

Дисертационният труд на асистент Благовест Бечев е посветен на актуален проблем и съдържа научни и приложни резултати, повечето от които представляват оригинален принос в областта на науката, в частност в приложението на хемилуминесценцията за медикобиологични и клинични изследвания. Настоящият труд е дело на автора, който показва качества и възможности за самостоятелно провеждане на научно проучване. Дисертационният труд отговаря на изискванията на Закона за развитие на академичния състав в Република България и на критериите на Медицински университет - София за придобиване на ОНС “доктор”.

Убедено препоръчвам на членовете на уважаемото научни жури да присъдят на Благовест Георгиев Бечев научната и образователна степен “доктор” по докторска програма “Биофизика” в професионално направление 4.1. Физически науки от област на висше образование 4. Природни науки, математика и информатика.

Поради гореизложеното, давам своята положителна оценка, гласувам с пълно убеждение с “ДА” и препоръчвам на уважаемото жури да предложи на Факултетния съвет на Медицински факултет на Медицински университет- София да присъди на Благовест Георгиев Бечев образователната и научна степен “ДОКТОР”.

28.09.2018 г.

Рецензент:..........

(Проф. д-р Н. Трифонова)