

РЕЦЕНЗИЯ

на дисертационния труд на ТЕОДОРА ИВАНОВА АПОСТОЛОВА, докторант на самостоятелна подготовка, Институт по биофизика и биомедицинско инженерство, БАН, на тема: “ВЛИЯНИЕ НА МИКРОВЪЛНОВО ЕЛЕКТРОМАГНИТНО ПОЛЕ ВЪРХУ ЕЛЕКТРИЧЕСКАТА, МЕХАНИЧЕСКАТА И ЕНЗИМНА АКТИВНОСТ И КОНФОРМАЦИЯ НА БЕЛТЪЦИТЕ В СКЕЛЕТЕН МУСКУЛ НА ЖАБА“ за присъждане на образователната и научна степен "ДОКТОР", направление биологически науки, шифър 4.3, специалност “физиология на животните и човека”

от доц.д-р Доля Тошкова Филипова, дм, член на научното жури, определено със заповед 102 от 27.04.2012 на Директора на Институт по биофизика и биомедицинско инженерство

Биографични данни: ТЕОДОРА ИВАНОВА АПОСТОЛОВА е родена на 04.02.1967г в Братислава. През 1991г получава магистърска степен от ТУ, София, като инженер по автоматика и системотехника. Завършва и Биология в СУ през 1998 г, като магистър. От 1991 до 1999 работи, като инженер по програмно осигуряване във Военната Академия “Г. С. Раковски”, а от 1999 до 2002 работи, като биолог специалист в “Национален център по заразни и паразитни болести”. В Институт по Биофизика, БАН постъпва през 2002 г, заемайки последователно длъжностите научен сътрудник III ст. – 2002 – 2005, II ст. – 2005 – 2011. От 2011 е главен асистент в “Секция Възбудими структури” на ИБФБМИ, БАН. Член е на Дружеството по физиологични науки.

Обща характеристика на научния труд: Представеният дисертационният труд от Теодора И. Апостолова с научен консултант доц. д-р Николина Радичева, дм, се отнася до един актуален и все още не напълно изяснен научен проблем, свързан с проучването на биомедицинското значение и потенциалните рискове от облъчване при приложението на микровълновото електромагнитно поле. Като се има предвид все по - широката употреба на микровълновите вълни в нашия бит, както и приложението им в медицинската практика и физиотерапевтичните процедури, тези проучвания, безспорно са от особено важно значение.

Дисертационният труд обхваща 211 страници от които 1 заглавна, съдържание - 6, съкращения - 3, увод -1, литературен обзор - 48, цел и задачи - 2, материал и методи - 21,

резултати - 37, обсъждане на получените резултати - 29, изводи - 4, приноси - 2, литература - 43, публикации във връзка с дисертационния труд - 2, участия в научни мероприятия със съобщения, свързани с дисертацията - 2, забелязани цитирания от чужди автори – 3 страници. Той включва общо 18 фигури и 11 таблици с висока информативна стойност.

Уводът въвежда по подходящ начин читателя в предмета на дисертационния труд. **Литературният обзор** е добре структуриран в тематично обособени подраздели, информативен е и представя съвременните хипотези за взаимодействието на микровълновите полета с биологичните системи – влиянието им върху възбудимите структури, мембранните процесите и йонни канали, върху ензимната активност и белтъчната конформация на субклетъчни структури и молекулни комплекси. Изхождайки от задачите, които Т. Апостолова си поставя за изследване ефекта на електромагнитното поле върху функционалното състояние на мускулните влакна, тя включва в обзора и една физиологична част, свързана с функционално - морфологичните характеристики на мускулните влакна: транспорт през клетъчната мембрана, невромускулна трансмисия, вътре и извънклетъчни акционни потенциали, механизъм на мускулното съкращение, мускулна умора. Обзорът показва отличното познаване на литературата, изключително е богат на цитирани източници - 389 заглавия на латиница от които 73 от последните 10 години и предоставя необходимата база за собственото проучване на проблема. Приложени са две фигури, отнасящи се до методичната част. Обзорът завършва с кратко заключение, което го обединява с последващото изложение.

Целта на дисертационния труд е формулирана ясно – “да се изследва **специфичният (нетемпературен)** ефект (ако има такъв) на високочестотно електромагнитно поле (2,45 GHz) върху електрическата, механическа, ензимна активност и конформацията на белтъците в скелетен мускул от жаба.” Целта предопределя поставянето на три задачи, като задачите 2 и 3 имат по три подзадачи, също така ясно и добре формулирани и разкриват широкия мащаб на планираните изследвания.

Раздел “Материал и методи”: За решение на поставените задачи докторантката е усвоила и приложила адекватни методи – електрофизиологични, биохимични, спектроскопски и статистически, представени подробно в раздела. Обект на изследване са изолирани скелетно-мускулни влакна от *m. gasrocnemius* на жаба, селектирани на базата на скоростта

на провеждане на бързо и бавно уморяеми. Подходите за решаване на поставените задачи се базират на предхождащите изследвания в секцията, отразени в защитени вече дисертации с доказани резултати. За оценка на функционалното състояние на мускулното влакно е приложен адекватен и информативен метод – запис на биоелектричната (електромиографска) активност чрез отвеждане на вътре клетъчни и извънклетъчни потенциали (чрез микроелектродна техника), оценяване на скоростта на провеждане по влакната, изследване на умората на облъчените с високоинтензивно (20 mW/cm^2) електромагнитно поле и необлъчени мускулните влакна. Проучвани са амплитудните, времеви и спектрални характеристики в абсолютни и нормирани стойности на регистрираните биоелектрични сигнали. Промените в честотните характеристики на потенциалите, от облъчени и необлъчени бързо и бавно уморяеми влакна, в резултат на умората, са анализирани с неконвенционални методи (дискретен уейвлет анализ, Фурие трансформация, медианна честота и спектрални индекси).

За изследване на влиянието на електромагнитното поле върху ацетилхолинестеразната активност, свързана със синаптичната невротрансмисия и процесите на умора, непосредствено и на 24 и 48 часа след облъчването, е приложена спектрофотометрия.

С цел търсене на конформационни промени в белтъчната структура на скелетните мускули в резултат на облъчването е приложена инфрачервена спектроскопия на лиофилизирани мускулни центрофугати.

Прави впечатление и приложението на богатия набор от най – съвременни статистически програми - Statistica 6.0, SPSS 13.0, Origin 6.5., Matlab 6.5, Mann-Whitney U тест, Kruskal-Wallis, ANOVA, приложени в зависимост от разпределението на данните – равномерно или не, оценено чрез Kolmogorov-Smirnov тест.

Овластяването на богатия набор от методи и интердисциплинарният подход за решаване на въпросите, свързани с ефекта на високочестотното микровълново поле върху протичането на физиологичните процеси в мускулните влакна, е постижение на докторантката.

На базата на големия обем експериментална работа и богатата методическа постановка са получени съществени резултати с потвърдителен и оригинален характер.

Главата Резултати е изложена в последователност, следваща хронологично поставените експериментални задачи. Тези резултати могат да бъдат обединени в два основни раздела:

1. Резултати от изследване на влиянието на електромагнитното поле върху функционалното състояние на мускулните влакна, категоризирани като бавно или бързо уморяеми чрез приложението на електрофизиологични методи.

2. Изследване на влиянието на електромагнитното поле върху ацетилхолинестеразната активност и белтъчна конформация в мембранна фракция на мускулен хомогенат на жаба. Резултатите, получени при приложението на електрофизиологичните методи са представени в четири статии, като три от тях са публикувани в списания с импакт фактор.

Те показват, че времето на контракция и релаксация на регистрираната механична активност на мускулните влакна е по-кратко след облъчването с **микровълново електромагнитно поле**. Електромагнитното микровълново облъчване променя функционалното състояние на влакната, повишава се амплитудата и се скъсява времетраенето на акционните потенциали (АП) по време на предизвикана контракция. Микровълновото поле повлиява времевите и амплитудни параметри на потенциалите - при облъчените влакна се наблюдава по-висока начална амплитуда на интрацелуларния потенциал и по-слабо намаляване на амплитудата на вътреклетъчния за 60s период.

В резултат на предизвиканата умора, амплитудните и времеви параметри на извънклетъчните потенциали са по-слабо повлияни след облъчване в сравнение с промените на потенциалите на необлъчени влакна. Скоростта на промените на изследваните параметри в периода на активност на мускулните влакна е забавена при облъчените влакна в сравнение с необлъчените, което предполага известна устойчивост към умора при облъчените влакна.

Особено задълбочено са изследвани промените в честотните характеристики на вътре- и извънклетъчните потенциали по време на продължителна активност, анализирани за първи път с комплексен методичен подход - дискретна уейвлет трансформация (DWT), Фурие трансформация (FT), цялата мощност (TP) и медианната честота (MDF), както и четири спектрални индекси. Приложението на този комплексен методичен подход за проучване динамиката на биоелектричната мускулна активност и процесите на умора в резултат на облъчването с високочестотно микровълново поле водят до съществени резултати.

Изменението на спектралната плътност на вътреклетъчните и извънклетъчни акционни потенциали показва значително увеличаване на ниските честоти, както и намаляване на високите с настъпване на умората в мускулните влакна, по-изразено за необлъчените

влакна, но не е показано дали тези разлики са статистически значими. Тези резултати се потвърждават и от изследването на медианната честота, показателна за изместване на спектралната мощност на потенциалите. Получени са значими различия между облъчените и необлъчени влакна, като изместването на медианната честота към нискочестотния спектър с развитието на умората е по-изразено при необлъчените влакна.

За първи път е приложен в оценката на мускулната умора уейвлет анализ, като получените резултати го утвърждават, като един нов и надежден метод, който разширява възможностите за оценка на умората на влакната. Изчислените уейвлет коефициенти не само потвърждават предходните резултати за намаляване на високочестотните компоненти, но и ги допълват, показвайки корелация с увеличаване на времевите параметри на извънклетъчните акционни потенциали при умората, по-изразена при необлъчените бавноуморяеми мускулни влакна.

Получените резултати показват, че измененията във времевите и спектрални параметри, които отразяват провокираните от умората изменения в мембранната проводимост, освен че са зависими от типа мускулни влакна и $[Ca^{2+}]$ съдържание на извънклетъчната среда, зависят и от микровълновото облъчване. При облъчените влакна умората настъпва по-късно и е по-слабо изразена в края на периода на непрекъсната активност на мускулното влакно. Приложението на уейвлет анализа за първи път и получените резултати имат приносен характер.

Интересни резултати са получени при изследване на промените под влияние на микровълновото поле, ниско и високо интензивно, върху мембранната фракция от мускулен хомогенат, посредством спектрофотометрия за оценка на ацетилхолинестеразната активност и инфрачервена спектрофотоскопия с цел търсене на конформационни промени в белтъчната структура.

Оригинални са получените данни за продължителния ефект на полето върху ацетилхолинестеразната активност през целия период на изследването – до 48 час, в зависимост от мощността на полето, погълнатата мощност на облъчваната фракция и базовия метаболизъм на изследваните влакна, както и данните за вторичната белтъчна конформация на общия белтък - увеличаване на неподредените структури на β - листовите и намаляване на α -спиралните участъци в мембранните фракции, облъчени с ниско и с високоинтензивно електромагнитно поле.

Резултатите в дисертационния труд са добре онагледени със съответните фигури и таблици. Някои от фигурите са композиция от няколко, което включва един по-голям обем от демонстративен материал, но в известен смисъл този начин на представяне затруднява тяхното възприемане, както и това, че те са на латиница, а текстът под тях е на кирилица. Дисертационният труд е написан на добър научен стил, но част от многото съкращения, както на кирилица - 29, така и на латиница - 13, биха могли да се избегнат.

Обсъждането на получените резултати включва четири раздела в които отново проличава доброто познаване на литературата от Т. Апостолова и възможностите да борава с нея. Направен е сравнителен анализ на приложените честотни методи за изследване на динамиката на биоелектричната мускулна активност при умора, като се изтъкват предимствата на дискретния уейвлет метод.

Сравнителният анализ на данните от експерименталното изследване и представените резултати са основание за направените осем извода и приложените шест приноса, които са в съответствие с цялостния замисъл на дисертационния труд.

Приложените 16 цитирания от чужди автори са доказателство за актуалността на използваните методи, значимостта на получените резултати и интереса към тях.

Дисертационният труд е отразен в 7 публикации в авторитетни списания. Три от публикациите са в списания с импакт фактор. В три от публикациите докторантката е първи автор. Той е намерил отражение и в 9 участия на научни международни и национални мероприятия, самостоятелно или в съавторство. Публикационната дейност надхвърля изискванията за образователната и научна степен “доктор.”

Авторефератът отразява напълно структурата и съдържанието на труда и акцентира върху най-съществените резултати и изводи от интердисциплинарното изследване на влиянието на микровълновото поле върху функционалните характеристики на скелетното мускулно влакно.

Заклучение: Дисертационният труд е едно комплексно, трудоемко и задълбочено проучване на един актуален проблем – биомедицинското значение при облъчване с високочестотно електромагнитно поле. Написан е на добър научен език, приложен е един широкоспектърен методичен подход, получените резултати са статистически обработени с най-съвременни методи, данните са адекватно дискутирани и приети в реномирани международни списания. В резултат на богатата методическа постановка и голям обем

експериментална работа са получени интересни резултати с потвърдителен и приносен характер. Те показват, че процесите на умора се развиват по-бавно и в по-слаба степен в облъчените скелетно - мускулни влакна и микровълновото облъчване променя тяхното функционално състояние. Изборът на параметри на електромагнитното поле, съобразени с тези, ползвани в нашия бит, определя не само теоретичната, но и потенциално – практичната стойност на получените резултати и научно-приложното значение на този дисертационен труд.

Всичко това ми дава основание да дам висока оценка на дисертационния труд и препоръчам убедено на членовете на уважаемото Научно жури да присъди на главен асистент ТЕОДОРА ИВАНОВА АПОСТОЛОВА научната и образователна степен “доктор”, направление биологически науки, шифър 4.3, специалност “физиология на животните и човека”

11. 06. 2012

София

Изготвил рецензията:

Доц. д-р Доля Т. Филипова, дм