

РЕЦЕНЗИЯ

от проф. д-р Иванка Илиева Костадинова, дм

върху дисертационен труд за присъждане на образователната и научна степен „Доктор“

Професионално направление: 7.1. Медицина

Акредитирана докторска програма: Фармакология / вкл. фармакокинетика и химиотерапия/

Автор: Магистър фармацевт Симона Александрова Александрова /Митева/

Форма на докторантурата: Задочна докторантура

Тема: „ Невропротективни механизми в ефектите на елаговата киселина върху експериментален модел на Паркинсонова болест при плъхове“

Научен ръководител: проф. д-р Любка Танчева, д.ф., ИНБ - БАН

Библиографични данни и професионално развитие:

Магистър фармацевт Симона Александрова Александрова завършва през 2008 година Фармацевтичен факултет на МУ-София. От ноември 2007 до ноември 2008 е администратор клинични проучвания в ТП Аб СРО инженеринг. От февруари 2009 до юни 2010 година Александрова работи като магистър фармацевт в Аптека А+ / Зимакс ЕООД/. От юни 2010 до януари 2013 година е сътрудник клинични изпитвания в Пфайзер Люксембург САРЛ, клон България. От януари 2013 до декември 2018 година е сътрудник клинични изпитвания, мениджър проекти в Новартис, Онкология. От януари 2019 до ноември 2019 е медицински научен сътрудник с основна дейност осигуряване на обучение и експертиза на клиничните изследвания в PRA Health Sciences. От ноември 2019 година до момента е регионален мениджър клинични изпитвания на Пфайзер Люксембург САРЛ, клон България с основна дейност „Надзор и организация на клинични проучвания“.

През 2019 година задочен докторант Александрова е провела обучение в Център за продължаващо обучение на Лесотехнически институт, София за защита и хуманно отношение към опитни животни, използвани за научни или образователни цели. От 2020 година е магистър по обществено здраве и здравен мениджмънт.

Магистър фармацевт Симона Александрова владее отлично английски език, работи с различни бази за събиране и съхранение на данни. Има отлична компютърна грамотност и технически умения, свързани с обработване и презентиране на данни, получени от експериментални и клинични проучвания.

Структура на дисертационния труд

Дисертационният труд на Симона Александрова Александрова „Невропротективни механизми в ефектите на елаговата киселина върху експериментален модел на Паркинсонова болест при плъхове“ съдържа 156 страници. Спазени са изискванията на ИНБ -БАН, София за присъждане на ОНС „Доктор“ при конструиране на дисертационния труд. Работата е онагледена с 14 фигури и 5 таблици. Разпределението по раздели е както следва: въведение -2 страници., литературен обзор – 53 страници, цел и задачи –1 стр., материал и методи – 11 стр., резултати – 13 стр., обсъждане – 12 стр., изводи -1 стр., приноси- 1 стр., списък на публикации и участия в научни форуми – 6 стр., използвана литература – 47 страници. Книгописът към дисертационния труд съдържа 368 източника. От последните 5 години са включени 115 източника. Актуалната информация дава възможност на докторантката да обсъжда най-съвременните теории и хипотези, свързани с болестта на Паркинсон /ПБ/.

Актуалност и значимост на дисертационния труд

Значимостта на направеното проучване е свързана с:

- ☐ Увеличената употреба на лекарствени продукти от растителен произход, с цел подобряване на ефикасността и лекарствената безопасност при комплексното лечение на различни заболявания. Според СЗО около 80% от населението на света използват за профилактика и първична здравна помощ такива продукти;
- ☐ Растителните продукти, които се използват с лечебна и профилактична цел имат лесен и удобен начин на приложение, което осигурява по-добро участие на пациента в профилактиката и лечението на различни заболявания;
- ☐ Предимство на природните продукти са уникалните химически структури, които са в основата на създаване на лекарствени продукти, повлияващи патофизиологични механизми на социално значими заболявания.
- ☐ Нарът *Punica granatum* L. се използва от векове в традиционната китайска медицина, в Аюрведа, персийската традиционна медицина за лечението на

атеросклероза, диабет, хипертония, хиперлипидемия, някои видове рак, язва и болести на храносмилателната система, а напоследък и на вирусни заболявания, включително и Ковид. Изследването на ефекта на активните съставки на това растение върху невродегенеративно заболяване като Паркинсонова болест ще подпомогне комплексното лечение и профилактика на това заболяване, ще подобри лекарствената безопасност и качеството на живот на болните.

□ Болестта на Паркинсон / ПБ/ е социално значимо невродегенеративно заболяване, което изисква продължително лечение. Нарушава се качеството на живот на болните и социалната им адаптация. ПБ е второто по разпространение в света невродегенеративно заболяване след болестта на Алцхаймер.

□ Проучвания на Broeders и Pedersen доказват, че при $\frac{1}{4}$ до $\frac{1}{2}$ от пациентите с ПБ е регистриран от лек когнитивен дефицит до деменция. В научната литература данните за влиянието на антипаркинсоновите средства върху когнитивните функции на животни и хора с ПБ са малко.

□ Промените в когницията като част от немоторните симптоми не винаги се диагностицират. Няма достатъчно данни за времето на появата на тези симптоми.

□ Разходите, свързани със заболяването се увеличават с напредването на болестта, поставяйки сериозна икономическа тежест върху здравната система, обществото и самите пациенти и семействата им.

Темата на дисертационния труд е актуална, защото е свързана с изследване на невропротективен ефект на елаговата киселина, на патофизиологичните механизми на повлияване на основните фактори, определящи прогресирането на симптомите на Паркинсоновата болест.

Във въведението на дисертационния труд докторантката посочва актуалността на проблема и мотивите за избора на дисертационната тема. Етиологията и патогенезата на невродегенеративните заболявания са обект на експериментални и клинични проучвания. Експериментални изследвания на екстракти от нар, богати на полифеноли, както и техните метаболити върху функциите на различните видове мозъчни клетки, подържането на техния редокс баланс, оцеляване и пролиферация, повлияването на клетъчното сигнализиране и механизмите на невропротективно действие на елаговата киселина са крачка в комплексното лечение на ПБ.

В литературния обзор Симона Александрова прави преглед на световните научни постижения по темата на дисертационния труд. Обсъдени са медицинската и социална значимост на болестта на Паркинсон, съвременните подходи в терапията на ПБ и съвременните схващания за етиологията и патогенетичните механизми при ПБ. Интерес представляват разгледаните хипотези за етиологията на заболяването, значението на допаминовия дефицит и митохондриалната дисфункция в механизмите, водещи до невродегенерация при ПБ. Централен механизъм за развитие на ПБ е агрегацията на α -синуклеин. За развитието на ПБ имат значение абнормен протеинов клирънс, митохондриална дисфункция и невровъзпаление. Предизвикателство пред науката е да се открие връзката между посочените причини и прогресирането на ПБ. В обзора са разгледани основите лекарствени препарати, които се използват в лечението на ПБ. Прилаганите групи лекарства имат симптоматичен ефект. Откриването на патогенетични средства за лечение на ПБ ще забави развитието на болестта и ще повиши ефективността от това лечение. Съпътстващата терапия на болестта на Алцхаймер и другите невродегенеративни заболявания включва синтетични и природни вещества с невропротективен ефект чрез повлияване на оксидативния стрес. Витамин С и Е, креатин, ко-ензим Q10, куркумин, женшен, кофеин и др. вещества са показали своята антиоксидантна и известна невропротективна функция и намират приложение в ко-медиацията на ПБ в опит за забавяне на прогресията. В обзора са разгледани източници за получаване на елагова киселина и елаготанини., фармакикинетичните и фармакодинамичните им свойства. Елаговата киселина е носител на полезните фармакологични ефекти на екстракти от нар. Обсъдена е фармакологичната активност на полифеноли от нар, фармакологични ефекти на елаговата киселина - аналгетичен, анксиолитичен и антидепресантен ефект и промените при стареене, невродегенерация и когнитивен спад. В обзора са описани изследвания на работния колектив, свързани с благоприятни ефекти на ЕК при ICR мишки при два експериментални *in vivo* модела на системен оксидативен стрес – грипна инфекция и скополамин-индуцирана деменция. Отчетено е значимо повлияване на когницията от ЕК. Докторантката изказва хипотезата, че потенциалните механизми на ефекта на ЕК върху когнитивната функция са свързани с допаминова модулация в мозъка, както и с директен антиоксидантен ефект.

Представените данни в литературния обзор доказват, че докторантката познава много добре литературата по темата на дисертацията. Аналитично и компетентно обсъжда нерешените проблеми.

Целта на дисертацията е написана ясно и точно. Поставените в дисертационния труд 5 задачи подпомагат изпълнението на поставената цел.

В дисертационния си труд докторантката е използвала за изпълнение на поставените задачи съвременни, утвърдени модели и методи за отчитане на поведенчески реакции, динамиката на моторна координация, степента и динамиката на обучението и паметта - пасивно избягване, неврохимично определяне на допамин и антиоксидантна активност.

В материал и методи подробно са описани използваните експериментални модели и методи. Посочването на положителните и отрицателните страни на съществуващите модели и методи на изследване., както и аргументите за използването на определени модели е необходимо за обосноваване на дизайна на докторантската теза.. За обработка на данните от експерименталните изследвания са използвани подходящи статистически тестове, които осигуряват достоверност и съпоставимост на получените резултати с данни на други автори. Докторантката притежава много добри компютърни умения, които ѝ помагат при презентирането и публикуването на получените резултати.

Резултатите са обработени и представени коректно. Като достойнство на дисертационния труд оценявам изучаването на патогенетични пътища чрез *in silico* предикционен анализ на тераностични молекули защото тераностиката предлага диагностика, прицелна терапия и проследяване на резултатите от терапията. Използваният от докторантката клъстерният анализ за обработването на резултатите дава основание да се предположи наличието на три основни механизма, които протичат поотделно и се допълват взаимно. ЕК повишава нивата на допамин в мозъка и намалява липидната пероксидация в увредените области; Промените на оксидативния стрес са свързани с поведенческите параметри на гризачите: Поведението на животните се определя от нивата на допамин. Потвърдена е хипотезата за ОС като основен патогенен фактор в прогресията на това невродегенеративно заболяване. С цел допълнително изследване на механизмите, отговорни за фармакологичния ефект на ЕК Симона Александрова провежда надграждащ анализ на основните компоненти (Principal

Component Analysis, PCA) на набор променливи, включително нива на допамин, липидна пероксидация, редуциран глутатион, каталаза, супероксид дисмутаза, глутатион пероксидаза, както ипсилатерално, така и контралатерално. Към този анализ докторантката включва резултатите от измерването на теглото на мозъка, Rotarod теста и апоморфиновия тест на втора и трета седмици след въвеждането на невротоксина и инициране на БП. Идентифицирани 5 главни компонента (PC1–PC5). Ефектът на ЕК върху ОС е оценен чрез неврохимични изследвания на нивата на липидно окисление като маркер за нивото на ОС, както и на нивата на основните маркери на ендегенната антиоксидантна защита – GSH, GPx, SOD и CAT. Проучванията на докторантката потвърждават резултати на други автори за активността на антиоксидантния капацитет на ЕК.

В обсъждането Симона Александрова съпоставя резултатите от настоящото изследване с данни на други автори. Установени са общи антиоксидантни механизми във възстановяващия ефект на ЕК върху плъхове с БП. Според резултатите от настоящето изследване, превантивното третиране с ЕК води до значително намаляване броя на контралатералните ротации при апоморфиновия тест, като най-добър ефект се наблюдава на 3-та седмица след третиране с токсина 6-OHDA. Дискутират се и вероятните причини за различията в резултати на други автори.. Данните от проведените експерименти са обобщени в 5 извода. Докторантката познава много добре литературата по темата на дисертационния труд, изказва своята позиция, анализира аргументирано получените резултати и направените изводи.

Дисертацията е написана и структурирана правилно. Целта и задачите са описани ясно. Резултатите и обсъждането са свързани логично. Изводите са точно формулирани, отговарят на данните, получени в научния експеримент. Дисертацията на Силвия Александрова има приноси с научно и приложно значение. Всички приноси са ясно формулирани, но можеше да се разделят на оригинални и такива с потвърдителен характер. Приемам и оценявам като значими приносите, посочените в дисертационния труд на Симона Александрова. Приносите на дисертационния труд са със значимо научно и практическо значение:

1. За първи път е установено невропротективното действие на ЕК върху унилатерален 6-OHDA модел на БП при нейното превантивно приложение.

2. Демонстрирана е оригинална пряка корелация между възстановяването на допаминергичната система, антиоксидантния ефект и подобряването на нервно-мускулната координация при плъхове, вследствие превантивното прилагане на ЕК.

3. За първи път беше установена изразена селективна способност на ЕК да повлиява селективно увредената хемисфера, в сравнение с интактната, което е видно от разликите в променените показатели на ОС и на допаминовите нива в двете хемисфери.

4. Представят се за първи път интегрирани поведенчески и биохимични данни, в подкрепа на заключението, че ЕК проявява едновременно комплексни невропротективни свойства и чрез различни биохимични механизми може да забави прогресията на БП в експериментални условия при плъхове.

Авторефератът към дисертационния труд „Невропротективни ефекти на елаговака киселина“ отговаря на изискванията, посочени в правилника на ИНБ- БАН, град София за присъждане на ОНС „Доктор“. Авторефератът е с обем 48 страници. Данните са представени със 7 фигури и 1 таблица. Приемам без забележки представения автореферат, защото пълно и точно отразява съдържанието на дисертационния труд

Публикации и участия на Симона Александрова в научни форуми по темата на проекта на дисертационен труд.

Симона Александрова е представила списък с 4 публикации по темата на дисертационния труд. Две от статиите са публикувани в списания с висок импакт фактор в Q1, една статия с импакт фактор в Q4. В две от статиите докторантката е първи автор. Симона Александрова е представила и доклад в пълен текст на международен научен форум. Докторантката е представила и списък на 12 участия в научни форуми по темата на дисертацията. Александрова е първи автор в 8 от участията в научни форуми, три от тях са в чужбина. В дисертационния труд са обсъдени най-новите постижения на експерименталната фармакология и клиничните проучвания, свързани с патогенезата и лечението на ПБ. Посочени са 26 цитирания, които потвърждават интереса към въпросите, които са разгледани в дисертационния труд. Посочените наукометрични данни потвърждават актуалността и значимостта на проблемите, разглеждани в дисертационния труд на Симона Александрова и тяхната научна стойност.

Представеният за рецензия дисертационен труд „ Невропротективни механизми в ефектите на елаговата киселина върху експериментален модел на Паркинсонова болест при плъхове“, авторефератът към него, представените публикации, участия в научни форуми отговарят на изискванията, посочени в правилника на ИНБ-БАН. Докторантката Симона Александрова покрива изискванията за регистрация в НАЦИД. Дисертацията е написана на точен и ясен български език. Симона Александрова има теоретични познания и практически умения, може да борава свободно с фактите от достъпната литература, изказва и защитава аргументирано собствената си позиция, сравнява и съпоставя получените собствени резултати с тези на други автори като търси причините за различията и приликите между тях. Сътрудничеството с водещи специалисти от различни научни звена, ръководството на докторанта от утвърден специалист и научен работник са гаранция за научната стойност на представения дисертационен труд. Симона Александрова притежава качества и умения за самостоятелно провеждане на научни изследвания. Въз основа на представените публикации, участия в научни форуми и дисертационен труд може да се направи извода, че те са лична заслуга на докторанта. Симона Александрова успява под ръководството на научния си ръководител проф. Любка Танчева да овладее редица съвременни методики, да работи в екип и да поддържа изследователските си интереси и контакти по проблеми, които развива с последователност и в колаборация с другите изследователи.

Оценка на подготовката на задочен докторант Симона Александрова Александрова в БАН по кредитна система

На табл. 1 е представена оценката от подготовката на задочен докторант Симона Александрова Александрова в БАН по кредитна система.

Табл. 1 Оценка на подготовката на задочен докторант Симона Александрова по кредитната система на БАН

Показатели	Задължителен минимум кредитни точки	Кредитни точки на Симона Александрова
Изпълнение на образователна програма	130	130

Апробация на научната програма	40	376
Публикации на научни резултати на темата на резултатите	80	256
Общ брой кредитни точки	250	762

Задочен докторант Симона Александрова е преизпълнила с 3 пъти повече кредитни точки програмата за обучение на докторанти в ИНБ-БАН.

Заключение:

Оценката ми за представения дисертационен труд „Невропротективни механизми в ефектите на елаговата киселина върху експериментален модел на Паркинсонова болест при плъхове“ на Силвия Александрова Александрова е положителна. Дисертационният труд е актуален, с научно и приложно значение. Силвия Александрова познава добре представения проблем, овладяла е много съвременни методики, които използва в експерименталната част на докторантската теза.

В дисертационния труд „Невропротективни механизми в ефектите на елаговата киселина върху експериментален модел на Паркинсонова болест при плъхове“ са използвани данни от предишни изследвания на работния колектив, изследователи от ИБН. Това е доказателство за работа в екип и насочени усилия в разработване на теми, свързани с изясняване на патогенетичните механизми на социално значимо заболяване каквото е ПБ. Обосновано е използването на най-подходящи модели и методи за изпълнение на поставената цел и задачи. Оригиналната идея, актуалността на проблема, отличното познаване на разглежданите въпроси, възможността за интерпретация и съпоставка на получените резултати с данни от експериментални проучвания на други автори, изказаните хипотези, изводите и приносите с теоретично и практическо значение ми дават основание да оценя положително дисертационния труд на Симона Александрова. автореферата към него и научната продукция по темата на дисертацията, направените изводи и приноси и да гласувам убедително за присъждане на образователната и научна степен „Доктор“ на Симона Александрова Александрова в

област на висше образование 7.0 Здравеопазване и спорт, професионално направление
7.1 Медицина и докторска програма по Фармакология.

27.02.2023 година

.....

Проф. д-р И. Костадинова, дм

Review

by Prof. Ivanka Ilieva Kostadinova, MD, PhD

on a dissertation work for the award of the Doctor's education and scientific degree

Professional direction: 7.1. Medicine

Accredited PhD: Pharmacology / incl. Pharmacokinetics and chemotherapy/

Author: Simona Alexandrova Alexandrova /Miteva /

Form of PhD: Optional doctoral studies

Topic: "Neuroprotective mechanisms in the effects of elagic acid on the experimental model of Parkinson's disease in rats"

Scientific adviser: Prof. Lyubka Tancheva, MD, PhD

Bibliographic data and professional development:

Simona Alexandrova Alexandrova graduated in 2008 from the Faculty of Pharmacy of MU-Sofia. From November 2007 to November 2008, he was the administrator of clinical studies at TP Ab SRO engineering. From February 2009 to June 2010, Alexandrova worked as a master of pharmacy at Pharmacy A+ / Zimax EOOD/. From June 2010 to January 2013, he was a clinical trial associate at Pfizer Luxembourg SARL, Bulgaria branch. From January 2013 to December 2018, he was a clinical trials associate, project manager at Novartis, Oncology. From January 2019 to November 2019, he was a medical research associate with the main activity of providing training and clinical research expertise at PRA Health Sciences. From November 2019 to the present, he is the regional manager of clinical trials of Pfizer Luxembourg SARL, Bulgaria branch, with the main activity "Supervision and organization of clinical trials".

In 2019, part-time doctoral student Alexandrova conducted training at the Center for Continuing Education of the Forestry Institute, Sofia, on the protection and humane treatment of experimental animals used for scientific or educational purposes. Since 2020, he has a master's degree in public health and health management.

Master of Pharmacy Simona Alexandrova is fluent in English, works with various databases for data collection and storage. Has excellent computer literacy and technical skills related to processing and presentation of data obtained from experimental and clinical studies.

Structure of the dissertation

Simona Alexandrova Alexandrova's dissertation "Neuroprotective mechanisms in the effects of ellagic acid /EA/ on an experimental model of Parkinson's disease in rats" contains 156 pages. The requirements of the National Academy of Sciences - BAS, Sofia for the awarding of the PhD degree for the construction of the dissertation have been met. The work is illustrated with 14 figures and 5 tables. The division by sections is as follows: introduction - 2 pages., literature review - 53 pages, aim and tasks - 1 page, material and methods - 11 pages, results - 13 pages, discussion - 12 pages, conclusions -1 p., contributions - 1 p., list of publications and participation in scientific forums - 6 p., used literature - 47 pages. The bibliography of the dissertation contains 368 sources. From the last 5 years, 115 sources have been included. Current information enables the doctoral student to discuss the latest theories and hypotheses related to Parkinson's disease /PD/.

Relevance and significance of the dissertation work

The significance of the research is related to:

- ☐ The increased use of medicinal products of plant origin. in order to improve the efficacy and drug safety in the complex treatment of various diseases. According to the WHO, about 80% of the world's population use such products for prevention and primary health care;
- ☐ Herbal products that are used for curative and prophylactic purposes have an easy and convenient way of application, which ensures better participation of the patient in the prevention and treatment of various diseases;
- ☐ An advantage of natural products is the unique chemical structures, which are the basis for the creation of medicinal products affecting the pathophysiological mechanisms of socially significant diseases.
- ☐ Pomegranate *Punica granatum* L. has been used for centuries in traditional Chinese medicine, Ayurveda, Persian traditional medicine for the treatment of atherosclerosis, diabetes, hypertension, hyperlipidemia, some types of cancer, ulcer and diseases of the digestive system, and more recently, viral diseases, including Covid. The study of the effect of the active ingredients of this plant on a neurodegenerative disease such as Parkinson's disease will support the complex treatment and prevention of this disease, will improve drug safety and the quality of life of patients.

□ Parkinson's disease / PD/ is a socially significant neurodegenerative disease that requires long-term treatment. The quality of life of the patients and their social adaptation is impaired. PD is the second most common neurodegenerative disease in the world after Alzheimer's disease.

□ Studies by Broeders and Pedersen prove that in $\frac{1}{4}$ to $\frac{1}{2}$ of patients with PD, mild cognitive deficit to dementia is recorded. In the scientific literature, there is little data on the effect of antiparkinsonian drugs on the cognitive functions of animals and humans with PD.

□ Changes in cognition as part of non-motor symptoms are not always diagnosed. There is insufficient data on the timing of the onset of these symptoms.

□ Costs associated with the disease increase as the disease progresses, placing a severe economic burden on the health care system, society, and the patients themselves and their families.

The topic of the dissertation is relevant because it is related to the study of the neuroprotective effect of ellagic acid, the pathophysiological mechanisms of influencing the main factors determining the progression of the symptoms of Parkinson's disease.

In the introduction of the dissertation, the doctoral student indicates the relevance of the problem and the reasons for choosing the dissertation topic. The etiology and pathogenesis of neurodegenerative diseases are the subject of experimental and clinical studies. Experimental studies of pomegranate extracts rich in polyphenols, as well as their metabolites on the functions of different types of brain cells, the maintenance of their redox balance, survival and proliferation, the influence of cell signaling and the mechanisms of neuroprotective action of ellagic acid are a step in the complex treatment on PB.

In the literature review, Simona Alexandrova reviews the world's scientific achievements on the topic of the dissertation work. The medical and social significance of Parkinson's disease, modern approaches in PD therapy, and current understanding of the etiology and pathogenetic mechanisms in PD are discussed. Of interest are the examined hypotheses about the etiology of the disease, the importance of dopamine deficiency and mitochondrial dysfunction in the mechanisms leading to neurodegeneration in PD. A central mechanism for the development of PD is the aggregation of α -synuclein. Abnormal protein clearance, mitochondrial dysfunction and neuroinflammation are important for the development of PD. A challenge for science is to discover the relationship between the stated

causes and the progression of PD. The overview examines the basic medicinal preparations that are used in the treatment of PB. The administered drug groups have a symptomatic effect. The discovery of pathogenetic agents for the treatment of PB will slow the progression of the disease and increase the effectiveness of this treatment. Adjunctive therapy for Alzheimer's disease and other neurodegenerative diseases includes synthetic and natural substances with a neuroprotective effect by affecting oxidative stress. Vitamin C and E, creatine, co-enzyme Q10, curcumin, ginseng, caffeine, etc. substances have shown their antioxidant and known neuroprotective function and are used in the co-medication of PD in an attempt to slow down the progression. The review examines sources for obtaining ellagic acid and ellagotannins, their pharmacokinetic and pharmacodynamic properties. Ellagic acid is the carrier of the beneficial pharmacological effects of pomegranate extracts. The pharmacological activity of pomegranate polyphenols, pharmacological effects of ellagic acid - analgesic, anxiolytic and antidepressant effects and changes in aging, neurodegeneration and cognitive decline are discussed. The review describes studies of the working group related to beneficial effects of EC in ICR mice in two experimental in vivo models of systemic oxidative stress - influenza infection and scopolamine-induced dementia. A significant effect of EC on cognition was reported. The PhD student hypothesizes that the potential mechanisms of EC's effect on cognitive function are related to dopamine modulation in the brain, as well as a direct antioxidant effect.

The data presented in the literature review prove that the doctoral student knows very well the literature on the topic of the dissertation. Discusses unresolved issues analytically and competently.

The purpose of the dissertation is written clearly and precisely. The 5 tasks set in the dissertation support the fulfillment of the set goal.

In her dissertation, the doctoral student used modern, established models and methods for reporting behavioral reactions, the dynamics of motor coordination, the degree and dynamics of learning and memory - passive avoidance, neurochemical determination of dopamine and antioxidant activity - to fulfill the set tasks.

The experimental models and methods used are described in detail in material and methods. Pointing out the positive and negative sides of the existing research models and methods, as well as the arguments for the use of certain models is necessary to justify the design of the doctoral thesis. Appropriate statistical tests were used to process the data from

the experimental studies, which ensure reliability. and comparability of the obtained results with data of other authors. The PhD student has very good computer skills, which help her in presenting and publishing the obtained results.

The results are processed and presented correctly. As a merit of the dissertation work, I appreciate the study of pathogenetic pathways by in silico predictive analysis of theranostic molecules because theranostics offers diagnostics, targeted therapy and follow-up of therapy results. The cluster analysis used by the doctoral student for the processing of the results gives reason to assume the presence of three main mechanisms that proceed separately and complement each other. EC increases dopamine levels in the brain and reduces lipid peroxidation in damaged areas; Oxidative stress changes are associated with behavioral parameters in rodents: Animal behavior is determined by dopamine levels. The hypothesis of OS as a major pathogenic factor in the progression of this neurodegenerative disease has been confirmed. In order to further investigate the mechanisms responsible for the pharmacological effect of EC, Simona Alexandrova conducted a Principal Component Analysis (PCA) on a set of variables, including levels of dopamine, lipid peroxidation, reduced glutathione, catalase, superoxide dismutase, glutathione peroxidase , both ipsilaterally and contralaterally. To this analysis, the PhD student included the results of the brain weight measurement, the Rotarod test, and the apomorphine test at the second and third weeks after administration of the neurotoxin and initiation of BP. 5 principal components (PC1–PC5) identified. The effect of EC on OS was assessed by neurochemical studies of lipid oxidation levels as a marker of OS level, as well as levels of the main markers of endogenous antioxidant defense – GSH, GPx, SOD and CAT. The studies of the doctoral student confirm the results of other authors about the activity of the antioxidant capacity of EA.

In the discussion, Simona Alexandrova compares the results of the present study with data from other authors. Common antioxidant mechanisms have been identified in the restorative effect of EC on PD rats. According to the results of the present study, preventive treatment with EC leads to a significant reduction in the number of contralateral rotations in the apomorphine test, with the best effect observed at week 3 after treatment with the toxin 6-OHDA. Possible reasons for the differences in results of other authors are also discussed. The data from the conducted experiments are summarized in 5 conclusions. The doctoral student knows very well the literature on the topic of the dissertation work, expresses her position, analyzes the obtained results and the conclusions drawn in a reasoned manner.

The dissertation is written and structured properly. The purpose and tasks are clearly described. Results and discussion are linked logically. The conclusions are precisely formulated, correspond to the data obtained in the scientific experiment. Silvia Alexandrova's dissertation has contributions of scientific and applied importance. All contributions are clearly worded, but could be divided into original and confirmatory ones. I accept and appreciate as significant the contributions indicated in Simona Alexandrova's dissertation work. The contributions of the dissertation are of significant scientific and practical importance:

1. For the first time, the neuroprotective effect of EC on a unilateral 6-OHDA model of PD was established in its preventive application.
2. An original direct correlation was demonstrated between the restoration of the dopaminergic system, the antioxidant effect and the improvement of neuromuscular coordination in rats, as a result of the preventive application of EC.
3. For the first time, a pronounced selective ability of EC to selectively affect the damaged hemisphere, compared to the intact one, was established, which is evident from the differences in the changed indicators of OS and dopamine levels in the two hemispheres.
4. Integrated behavioral and biochemical data are presented for the first time, supporting the conclusion that EC exhibits both complex neuroprotective properties and through different biochemical mechanisms can delay the progression of BP in experimental conditions in rats.

The abstract for the dissertation work "Neuroprotective effects of ellagic acid" meets the requirements specified in the rules of the Institute of National Academy of Sciences of Sofia, Sofia for the awarding of the ONS "Doctor". The abstract has a volume of 48 pages. The data are presented with 7 figures and 1 table. I accept the presented abstract without any objections, because it fully and accurately reflects the content of the dissertation work

Simona Alexandrova's publications and participation in scientific forums on the topic of the dissertation project.

Simona Alexandrova has submitted a list of 4 publications on the topic of the dissertation work. Two of the articles were published in high impact factor journals in Q1, one article with an impact factor in Q4. In two of the articles, the doctoral student is the first author. Simona Alexandrova has also presented a report in full text at an international scientific forum. The doctoral student has also presented a list of 12 participations in scientific

forums on the topic of the dissertation. Alexandrova is the first author in 8 of the participations in scientific forums, three of them are abroad. The thesis discusses the latest advances in experimental pharmacology and clinical research related to the pathogenesis and treatment of PD. 26 citations are indicated, which confirm the interest in the issues that are considered in the dissertation work. The indicated scientometric data confirm the relevance and significance of the problems considered in Simona Alexandrova's dissertation and their scientific value.

The dissertation submitted for review "Neuroprotective mechanisms in the effects of ellagic acid on an experimental model of Parkinson's disease in rats", the abstract to it, the publications presented, participation in scientific forums meet the requirements specified in the rules of the Institute of National Academy of Sciences and Arts. Simona Aleksandrova meets the requirements for registration at NACID. The dissertation is written in precise and clear Bulgarian language. Simona Alexandrova has theoretical knowledge and practical skills, can freely handle the facts from the available literature, expresses and defends her own position with arguments, compares and contrasts her own results with those of other authors, looking for the reasons for the differences and similarities between them. The cooperation with leading specialists from various scientific units, the supervision of the doctoral student by an established specialist and a scientific worker are a guarantee of the scientific value of the presented dissertation work. Simona Alexandrova has the qualities and skills to independently conduct scientific research. Based on the presented publications, participation in scientific forums and dissertation work, it can be concluded that they are a personal merit of the doctoral student. Simona Alexandrova managed, under the guidance of her scientific supervisor, Prof. Lyubka Tancheva, to master a number of modern methods, to work in a team and to maintain her research interests and contacts on problems that she develops consistently and in collaboration with other researchers.

Evaluation of the training of part-time doctoral student Simona Alexandrova Alexandrova at the BAS according to the credit system

On the table 1 presents the evaluation of the preparation of part-time doctoral student Simona Alexandrova Alexandrova at the BAS under the credit system.

Table 1 Evaluation of the preparation of part-time doctoral student Simona Alexandrova under the BAS credit system

Indicators	Mandatory minimum credit points	Simona Alexandrova
Implementation of an educational program	130	130
Approbation of the scientific program	40	376
Publications of scientific results on the topic of results	80	256
Total number of credit points	250	762

Correspondence doctoral student Simona Alexandrova has completed the doctoral training program at INB-BAS with 3 times more credit points.

Conclusion:

My assessment of the submitted thesis "Neuroprotective mechanisms in the effects of ellagic acid on an experimental model of Parkinson's disease in rats" by Silvia Alexandrova Alexandrova is positive. The dissertation work is up-to-date, with scientific and applied significance. Silvia Alexandrova knows the presented problem well, she has mastered many modern methods, which she uses in the experimental part of the doctoral thesis.

In the dissertation work "Neuroprotective mechanisms in the effects of ellagic acid on an experimental model of Parkinson's disease in rats" data from previous studies of the working group, researchers from IBN, were used. This is evidence of teamwork and focused efforts in developing topics related to elucidating the pathogenetic mechanisms of a socially significant disease such as PD. The use of the most suitable models and methods for the implementation of the set goal and tasks is justified. The original idea, the topicality of the problem, the excellent knowledge of the issues under consideration, the possibility of interpretation and comparison of the obtained results with data from experimental studies of other authors, the expressed hypotheses, conclusions and contributions of theoretical and practical importance give me reason to positively evaluate the dissertation work of Simona Alexandrova. the abstract to it and the scientific production on the subject of the dissertation, the conclusions and contributions made and to vote convincingly to award the educational and scientific degree "Doctor" to Simona Alexandrova Alexandrova in the field of higher

education 7.0 Health care and sports, professional direction 7.1 Medicine and doctoral program in Pharmacology.

28.02.2023

prof. I.Kostadinovaq MD, PhD