

Р е ц е н з и я

върху дисертационен труд за придобиване на образователната и научната степен „Доктор”

Автор на дисертационния труд: Ирина Маринова Готова

Тема на дисертационния труд: „Проучване на имунорегулаторни свойства на млечнокисели бактерии и подбор на щамове за продукти със здравни ползи”.

Рецензент: проф. двмн Георги З. Славчев

Представеният ми дисертационен труд обхваща 162 компютърни страници с 25 таблици и 42 фигури в текста, както и справка за ползваната литература с 331 заглавия, от които 4 на кирилица.

Дисертационният труд е структуиран както следва: въведение – състоящо се от 1 страница; литературен обзор - от 57 стр.; цел и задачи - 1 стр.; материали и методи - от 21 стр.; резултати и обсъждане - от 51 стр.; изводи и приноси - от 2 стр.; използвана литература - от 24 стр.

1. Актуалност на разработвания в дисертационния труд проблем в научно и научно-приложно отношение.

През последните години все повече се засилва интереса в световен план към връзката между храната и здравето. Обяснението се крие във факта, че научните изследвания доказаха и продължават да доказват превъзходните функционални свойства на млечнокиселите микроорганизми като част от състава на ферментиралите млечни продукти. Технологията, по същество, се определя от качествата и биохимичната активност на използваните МКБ. В такъв случай, възможен подход за решаване на проблема следва да се търси в подбор на щамове МКБ, които притежават пробиотични свойства. Този принцип заема централно място в хипотезата на докторанта и, както ще видим, Готова го развива успешно с положителни крайни резултати. Видно е, че от посочената гледна точка тематиката на дисертационния труд е актуална, както за науката, така и за практиката.

Преценявайки важността на проблема, с редица все още нерешени въпроси по отношение имунорегулаторни свойства на изолираните у нас МКБ, Готова формулира 7 задачи за изследвания, в които са включени най-актуалните и значими въпроси относно имунорегулаторните свойства на изследваните пробиотични бактерии.

2. Степен на познаване на състоянието на проблема и на литературния материал.

За постигане на основната цел докторантката прави задълбочен преглед на литературата в тази област. От 331 литературни източници, 72% са публикувани в периода до 2009 г., 23% в периода 2010 - 2014 г. и 5% в последните 5 години. Това говори за една добра съвременна литературна осведоменост по разработваните въпроси.

Литературният обзор е правилно структуиран. В първия раздел са отразени данните относно общата характеристика на МКБ, извършен е преглед на пробиотиците и пребиотиците.

Вторият раздел, свързан със същността на дисертационния труд, включва литературни проучвания върху свойствата на пробиотичните

бактерии, в това число: способност за преживяване и адхезия в стомашно-чревния тракт, взаимодействието на пробиотиците с човешката интестинална микрофлора, антимикробна и антиоксидантна активност и др. Приведен е богат материал от данни конкретно по способността за освобождаване на биоактивни пептиди и тяхната имуномодулираща активност, както и същността на имунния отговор.

Преценката ми е, че дисертантът добре познава състоянието на проблема и използваната информация е целенасочена. Обзорът е представен на високо професионално научно ниво, без излишни подробности, с добро заключение в края. В него е разгледано състоянието на проблема с изключителната сложност и комплексност на имунния механизъм, както и кои въпроси са изяснени, кои са дискусионни и кои следва да се проучат.

3. Съответствие на избраната методика на изследване и поставената цел и задачи.

За решаване на проблема са използвани голям набор от методи, сред които: микробиологични, молекулярно-биологични, хроматографски, електрофоретични, имунологични, биотехнологични и технологични.

Същите са подробно описани в методичната част на дисертацията и позволяват да се решат успешно формулираните задачи и по този начин да се постигне поставената цел. Още в избора и описание на методите става ясно изключително голямата широта и мащаб, с които дисертантът се заема. В последващите резултати този подход продължава в пълен синхрон. Така дисертационният труд има съвременно звучене.

4. Характеристика на естеството и оценка на достоверността на материала.

Дисертационният труд е разработен в „Ел Би Булгариум“ ЕАД под ръководството на именити наши учени. Експерименталните дейности са проведени в същата фирма, притежаваща съвременно високотехнологично оборудване за производство на закваски и апаратура за анализ на високо научно ниво.

Постановката на опитите и интервалите на изследвания са подходящи. С подбранныте методи, проведените опити и изследвания материал, със съответните показатели, осигурява достоверни резултати и пълна информация на разработвания проблем.

За да достигне до своята крайна цел, получаване на пробиотичен продукт с определени здравни ползи, Готова целенасочено провежда своите изследвания и последователно разкрива съответните свойства на изследваните МКБ.

Чрез проучване на 31 щама МКБ, се установява че 17 от тях са с киселомлечен произход и 14 - с интестинален. В следващата стъпка авторът извършва видова идентификация и щамово разграничаване с молекулярни методи, оценка на способността за адхезия и изследване природата на адхезивните фактори. След това докторантът достига до основната задача да се установи способността на МКБ за повлияване на имунните сигнали. Чрез подходящи съвременни лабораторни модели, чрез които създава условия за взаимодействие между бактериалните клетки и клетките на чревния епител, измерва индукцията на различните цитокини и

прави подбор на 5 щама с оптимален антифламаторен цитокинов профил. С цел по-пълно разкриване на механизма на имунния отговор, авторът изследва МКБ и за индукция на цитокини, участващи в клетъчно-медирирания и хумурален имунен отговор. Доказва се, че подбрани щамове МКБ при ферментацията на млякото и в процеса на зреене на сирената чрез своята протеолитична активност могат да освобождават биоактивни пептиди с имуномодулиращо действие. Така от 7 щама определени като добри протеолитици, след двуетапно хроматографско разделение, три щама са показали положителна цитокинова индукция.

Проведеното клинично изпитване на един щам *L. gasseri* удостоверява лабораторно установените пробиотични свойства и *in vivo*. Получените данни, доказващи имунорегулаторните свойства на МКБ, са предпоставка за разработка на хранителни добавки, съдържащи лиофилизираны пробиотични култури. В опити с изпитване на различни цитокинови експресии, са подбрани 2 комбинации от щамове - една за повишаване на общия имунен отговор и друга за понижаване вероятността от задействане на възпалителна реакция в чревния тракт. Получени са лиофилизираны продукти, в които клетките са сполучливо защитени, запазвайки високо съдържание на активни бактерии.

5. Приноси на дисертационният труд.

Получените резултати са представени прегледно в 25 таблици и 42 фигури и добре изложени текстово, без излишни подробности.

Въз основа на получените резултати са направени 7 обобщени извода, които приемам.

Основните научни и научно-приложни приноси от дисертационния труд в обобщен вид ще формулирам според техния характер:

A. Обогатяване на съществуващи знания.

1. Чрез разработен метод е определена природата на адхезините на щамове МКБ, способни да адхезират към човешки чревен епител.
2. Определени са щамове способни да индуцират значимо или да инхибират продукцията на цитокини, свързани с определен тип на имунния отговор, с цел включването им в пробиотични продукти с конкретна насоченост.
3. За първи път е доказана способността на щам *L. bulgaricus* да освобождава биоактивни пептиди, способни да индуцират различни цитокини.
4. Разработен е нов методичен подход за изолиране и пречистване на биоактивни пептиди, с влияние върху имунния отговор.
5. Чрез терминален рестриктен полиморфизъм безкултивационно са определени бактериалните групи в човешки интестинален тракт.

B. Приложение на научните постижения в практиката.

1. Разработен и внедрен в производство е пробиотичен продукт за повишаване на общия имунитет.
2. Селектирани са пробиотични щамове, подходящи за включване в закваски за бяло саламурено сирене с повишено съдържание на биоактивни пептиди с имунорегулаторно действие.

6. Преценка на публикациите по дисертационният труд

Във връзка с дисертационния труд са отпечатани 7 колективни научни съобщения. На 5 от тях Готова е водещ автор, а при две е на второ място. От тях, 3 са публикувани в международни списания, едно в *Acta microbiologica Bulgaria* и 3 са докладвани на международни научни форуми. Всички публкации са на английски език и са част от дисертационния труд. Представена е справка за 10 цитирания от други автори.

7. Използване на резултатите от дисертационният труд в научната и социална практика.

Значимостта на приносите от получените резултати за науката се състои в доизясняване на съществуващ проблем, а за практиката – в социално здравен и икономически аспект, от разработването и внедряването на пробиотичен продукт с определени здравни ползи.

8. Оценка на автореферата.

Авторефератът, състоящ се от 57 стр., е изгotten съгласно изискванията и в него правилно са отразени основните положения и научните приноси на дисертационния труд.

9. Мнения, препоръки и бележки.

Изборът на темата е актуален и придава теоретико-приложната стойност на разработката. Структурата на изложението е съобразена с възприетите норми на тази категория научни трудове. Задълбочен, многостранен и богат на информация е литературният преглед. Много целенасочено в него е обобщението, въз основа на което се аргументира изборът на темата и целта на изследванията. В унисон с нейното постигане са поставените 7 задачи. За решаването им Готова показва, че владее необходимите и адекватни на темата практически подходи - от класическите микробиологични, физикохимични и биохимични методи, до съвременните – на молекуларно ниво. Описанието на собствените резултати е направено прегледно и разбираемо. За съжаление, в обсъждането им е слабо представено, без необходимата дискусия. Собствените резултати не са интерпретирани с тези на други автори, за по-добро откряване на тези с оригинално значение или потвърдителен характер. Направените 7 извода са логично следствие от поставените задачи и синтезирано представлят резултатите на този стойностен дисертационен труд. Представените 10 приноса подчертават значимостта на разработката. Приложният списък на 4 публкации по темата на дисертацията, отразява една целенасочена научна продукция за периода от последните 5 години.

Проведената изследователска дейност на Готова заслужава висока оценка. Фактът, че резултатите от тази дейност на докторанта са достигнали реализация в практиката, оценявам като сериозен успех и заслужава необходимата признателност. Последните факти напоследък станаха рядко явление.

Познавам Готова от завършването и на висше образование. Бях рецензент на дипломната й работа на тема „Функционални храни на база млечнокисели бактерии“. С това искам да почертая, че Готова целенасочено и последователно продължава своята изследователскдейност

в областта на пробиотиците и постига своята цел - готов продукт с определен пробиотичен ефект.

10. Заключение.

Дисертационният труд третира актуален социално-здравен въпрос. Проблемът е разработен комплексно, с използване на достатъчен по обем експериментален материал и съвременни методи на изследване. С него се правят определени научни и научно-приложни приноси.

На основание на направенатаоценка считам, че дисертационният труд отговаря на изискванията на ЗРАСРБ и на Правилника за неговото приложение.

Въз основа на направения анализ давам положителна оценка на разработения дисертационен труд и считам за основателно да предложа Ирина Маринова Готова да придобие образователната и научната степен „Доктор“ по Код: 01061

08.05.2019

Рецензент:

Проф.двмн Г.Славчев