

**ДО ПРЕДСЕДАТЕЛЯ НА НАУЧНОТО
ЖУРИ НАЗНАЧЕНО СЪС ЗАПОВЕД
на Директора на ИМ на БАН**

С Т А Н О В И Щ Е

относно процедура за придобиване на ОНС „Доктор“ с кандидат **Ирина Маринова Готова** , докторант на самостоятелна подготовка в ИМ на БАН, в област на висше образование 4. Природни науки, математика и информатика, професионално направление 4.3 Биологически науки, по научната специалност „Микробиология”

Тема на дисертационния труд: „ПРОУЧВАНЕ НА ИМУНОРЕГУЛАТОРНИ СВОЙСТВА НА МЛЕЧНОКИСЕЛИ БАКТЕРИИ И ПОДБОР НА ЩАМОВЕ ЗА ПРОДУКТИ СЪС ЗДРАВНИ ПОЛЗИ“

Научни ръководители: Чл.- кор. Христо Найденски, д-р; Проф. д-р Жечко Димитров

Изготвил становището: Доц. Иван Николаев Иванов, д-р завеждащ Национална референтна лаборатория по контрол и мониториране на антимикробната резистентност, отд. Микробиология, Национален център по заразни и паразитни болести

Декларирам, че нямам общи публикации или конфликт на интереси от друг характер по смисъла на ал.1, т.3 и 5 от ДР на ЗРАСРБ с докторанта.

Представените ми документи са изготвени коректно и в съответствие със Закона за развитието на академичния състав в Република България (ЗРАСРБ) и правилника за прилагането му в ИМ на БАН.

Актуалност на темата. Дисертационният труд на Ирина Готова третира един изключително актуален въпрос, а именно имуномодулаторните ефекти на млечнокиселите бактерии върху човешкия организъм. С нарастващото значение на проблема с антимикробната резистентност, през последното десетилетие все по-активно се търсят нови терапевтични и профилактични подходи, които да намалят антибиотичния натиск върху бактериите. В този смисъл отдавна е доказана ролята на пробиотичните препарати при гастро-ентерити, като те все по-често намират приложение и при повиляването на инфекции с екстраинтестинална локализация (напр. риносинусити, вагинози и уроинфекции). Съществуващите проблеми обаче свързани с липсата на общоприети

международни стандарти за добри производствени практики и мерки за сигурност, все още възпрепятстват клиничните изпитвания на тези препарати. Ето защо детайлното молекулярно охарактеризиране на пробиотичните щамове и конкретното им въздействие върху организма са от ключово значение. Като цяло намирам темата за изключително интересна и актуална.

Структура на дисертационния труд и библиография. Дисертацията е с обем от 168 страници и е структурирана стандартно както следва: Въведение - 1 стр.; Литературен обзор - 61 стр.; Цел и задачи – 1 стр.; Материали и методи 22 стр.; Резултати и обсъждане - 49 стр., Изводи и Справка за приносите по 1 стр. Включва 42 фигури и 25 таблици както и 331 литературни източника, 9 от които на кирилица. Библиографската справка сочи, че над 80% от цитираните статии са публикувани през последните 10 години, което подчертава още веднъж актуалността на работата.

Литературен обзор. Докторантката представя **компетентно написан, съвременен и информативен обзор.** Изчерпателно са разгледани всички аспекти на проблема. Таксономията е представена в съответствие със съвременната генотипна класификация. По-нататък специално внимание е обърнато на морфологията, физиологията, културелните особености с акцент върху лактобацилите, бифидобактериите и стрептококите. Детайлно са разгледани генетичните фингърпринтинг, секвениращи и безкултивационни методи обичайно прилагани в таксономията и филогенетиката на разглежданите бактерии. Тук отчитам като пропуск засягането на ролята на новогенерационното и целогеномно секвениране, отговорни за мащабните рекласификационни променни, които наблюдавахме при редица таксони, както и ролята им при паспортизацията на пробиотични щамове. По нататък са дефинирани понятията пробиотик, пребиотик и синбиотик и критериите, на които трябва да отговарят щамовете характеризиращи се с тези термини. Извършен е обзор на известните механизми на адхезия, имуномодуляция и директния антимикробен ефект на пробиотиците. Описани са проучените до момента биоактивни пептиди продуцирани от лактобацили, стрептококи и др. В заключението на обзора, дисертантката извежда и систематизира най-важните съвременни дискутабилни теми, като подчертава и ограничения брой на проучванията в България, и необходимостта от актуализация на методиките за изпитване на свойствата нови щамове.

Цел и задачи. Целта и седемте задачи са прецизно формулирани, отразявайки основните аспекти и същността на дисертационния труд.

Материалите и методите са детайлно и коректно описани, от което ясно личи високото ниво на компетентност на кандидатката. Впечатление прави уметелото използване на значителен набор от традиционни микробиологични, молекулярно-генетични и статистически методи, които докторантката е усвоила. Всички микробиологични и биохимични техники както са извършени според съвременните препоръки и стандарти. PCR методиките са адекватно описани със задължителните положителни контролни щамове и отрицателни контроли. Останалите методи касаещи изпитването на адхезивните свойства и проведеното клинично проучване са акуратно изложени. Към този раздел имам някои дребни забележки: 1) при използване на неоригинални праймери (напр. 16S rRNA) е редно освен секвенцията им, да се цитира и съответния литературния източник; 2) при qPCR за относителна експресия, е редно да се опише по-детайлно методиката за анализ съобразно световните препоръки MIQE (напр. $2^{-\Delta\Delta Ct}$) с или без корекция по ефективност)

Резултатите и обсъждане. В първата част е извършено прецизно молекулярно-генетично характеризирание на щамовете, което дава възможност за изключването на потенциално дублиращи се изолати. Важен момент е валидирането на tRFLP като подход за безкултивационно характеризирание на чревния микробиом. Във втората част са установени щамовете *L. plantarum/ gasseri* In004, *L. gasseri* In012 показващи най-висока степен на специфична адхезия към чревния епител, която се оказва сравнима с тази на други индустриални щамове. Характеризирана е молекулярната природа на адхезивните фактори и е проучена тяхната генна експресия при различни условия на средата. Третата част характеризира щамовете по отношение на имуномодулаторните им свойства, в следствие на което биват селектирани четири щама с оптимални противовъзпалителни качества. Съществена находка е регистрирането на щамове способни да индуцират продукция на IL-1 и IFN γ (клетърно медиран отговор), както и IL-4 (хуморален). По-нататък след определяне протеолитичната способност на щамовете, седем от тях са насочени към оценка на техни фракции от биоактивни пептиди да индуцират IFN γ и IL-4 в спленцити. Оказва се, че освен *L. helveticus* е доказан щам *L. delbrückii subsp. bulgaricus* показващ засилена индукция и на двата цитокина, което го прави потенциален кандидат

за промишлени разработки. Съществен принос е секвенирането на двата най-индуцибелни пептида. Последната експериментална част разглежда проведено рандомизирано плацебо контролирано проучване, при което се установяват резултати за П-8 и П-10 противоречащи на получените ин-витро, но все пак ясно открояващи желаните качества при индукцията на IFN γ и имуноглобулини от клас А.

Изводите, седем на брой, са прецизно формулирани и отразяват адекватно изпълнението на целта и поставените задачи, едновременно акцентирайки върху най-значимите находки от дисертационния труд.

Работата представя значителни оригинални научни и практически приноси, които напълно приемам.

Ирина Готова представя четири публикации свързани с дисертационния труд. Във две от тях е първи автор, което свидетелства за нейния водещ и съществен принос в изследванията. Две от публикациите са реферирани, като едната е с импакт фактор. Считаю, че наукометричните показатели надхвърлят критериите за придобиване на ОНС „Доктор“ заложи в правилника на ИМ-БАН.

Заклучение. Работата притежава безспорна научна стойност, изследванията са извършени акуратно чрез съвременни методи и подходи. Получените данни разширяват разбирането ни по темата и са представени по начин достоен за научна разработка от такъв характер.

На базата на изложеното, смятам че докторантката напълно изпълнява критериите за придобиване на образователната и научна степен „Доктор“ според Закона за развитието на академичния състав в Република България (ЗРАСРБ) и правилника за прилагането му в ИМ-БАН и убедено предлагам на уважаемите членове на журито и НС да одобрят кандидатурата ѝ.

Дата: 22/05/2019

Изготвил становището:.....

/Доц. Иван Иванов/