

РЕЦЕНЗИЯ

от доц. д-р Златка Алексиева
на дисертация на тема: „**Получаване и характеристика на нова
неураминидаза от *Aeromonascaviae* 40/02**”
автор на дисертацията: асистент Стефан Енгибаров
докторант на самостоятелна подготовка

Неураминидазите са ензими, които имат ключова роля в метаболизма на сиаловите съединения и се определят като един от факторите на патогенност в инфекциозните процеси, чрез повишаване на вирулентния потенциал на патогенните микроорганизми. Сиаловите киселини имат важна роля в редица процеси на междуклетъчно взаимодействие. Наред с участието си в различни клетъчни процеси като мембранен транспорт, защита на епителни клетки от вредни субстанции и патогени и др. с тяхна помощ микроорганизмите могат да се защитят от имунната система на макроорганизмите - „молекулярна мимикрия“. Неураминидазите са екзогликозидази, които катализират откъсването на сиалови киселини от сиалогликоконюгатите, намиращи се по повърхността на клетката. Първоначалният научен ръководител на докторанта, проф. Абрашев, в свои изследвания доказва, че способността за синтез на ензима неураминидаза не е таксономичен признак и понякога близкородствени видове и щамове от един и същ вид се различават по способността си да продуцират този ензим.

Актуални научни направления са търсене и характеризиране на непатогенни продуценти на неураминидази, проучване на неураминидази с бактериален произход, синтез и модификацията на гликопротеини, намиращи широко приложение във фармацията и медицината и др. Представената за рецензиране разработка в голяма степен съответства на решаваните в тези направления задачи.

Представеният ми за рецензия дисертационен труд е структуриран стандартно. Отпечатан е на 92 стандартни страници. Списъкът на използваната литература наброява 219 източника, от които 3 са на кирилица, 112 са публикувани след 2000 г., което показва, че авторът е запознат със съвременните изследвания по разработваната тематика. Представеният дисертационен труд е илюстриран с 12 таблици и 23 фигури.

В глава „Литературен обзор” асистент Енгибаров показва висока компетентност и много добро познаване на известните и нерешени проблеми, свързана с ензимите неураминидази. Те са сложни за проучване ензими поради голямото разнообразие в част от основните за повечето ензими характеристики като субстратна специфичност, молекулни тегла и първична структура. Различия се наблюдават дори при някои изоензими, продуцирани от един и същ микроорганизъм. Показано е широкото разнообразие от химични, физични и физиологични фактори, влияещи върху процесите на синтез, регулация и активност на тези ензими, продуцирани от бактерии. Интересна и дискутабилна част от обзора е посветена на зависимостта на рН-оптимума на неураминидазите от състава на използваните в експериментите буфери. Особено място в обзора е предоставено на биологичната роля на бактериалните неураминидази и усилването на микробната патогенност чрез процесите на десилизиране.

Във всички части на Литературния обзор е отделено внимание на наличната информация, касаеща представители на род *Aeromonas*, способни да синтезират неураминидази. Представена е информация и за прилаганите хроматографски методи за пречистване на белтъци с неураминидазна активност. Частта на обзора, посветена на приложението на неураминидазите в медицинската и фармацевтична практики, в химическата индустрия и екологията доказва убедително актуалността и значимостта на проучванията на нови продуценти на тези ензими.

В представения за рецензиране материал основната цел е формулирана ясно, а за изпълнението и са поставени 9 конкретни задачи, които ясно маркират посоките на настоящото изследване.

В глава „Материали и Методи” са описани разнообразни морфологични, физиологични, биохимични, химични, молекулярни и микробиологични методи, имащи пряко отношение към характеризиране на неураминидазната продукция на щама-продуцент. Използването на всички описани методи за разработката на настоящата дисертация характеризира докторанта като високо квалифициран експериментатор с широк и специализиран арсенал за изследователска дейност в областта на микробната биохимия.

В глава „Резултати и обсъждане” търсенето на подходящ продуцент започва с проучването на 40 изолата по отношение продукция на неураминидаза, чрез измерване на активността на ензима. Осъществена е морфологична, физиологична и биохимична характеристика на най-добрият от изолатите, определен първоначално като *Aeromonas* sp. 40/02. Проведеният молекулярно - таксономичен анализ, в съчетание с другитаксономични характеристики, с висока точност определя принадлежността на щама към вида *Aeromonas caviae*.

Изпитана е чувствителността на щама по отношение на 11 антибиотика и 1 сулфонов препарат. Определени са протеолитичната, неураминидазна и алдолазна активности на щама и др. Основно внимание е отделено на характеризирането на неураминидазната продукция на щама продуцент. Изследвано е влиянието на различни хранителни среди, режими на аерация, фази на растеж. Определени са температурният и рН оптимуми на изследвания ензим. От особено значение е разделът посветен на изолиране и пречистване на ензима неураминидаза, както и установяване на някои важни характеристики на ензима, като молекулно тегло от 130 кДа. Установена е много широка субстратна специфичност на

неураминидазата, продуцирана от щам *Aeromonas caviae* 40/02. Така е установена способността на този ензим да хидролизира и трите типа гликозидни връзки в сиалосъдържащите съединения, а именно: α 2-3, α 2-6 и α 2-8 връзки. Най-ефективно се разгражда субстрата глюкомакропептид, който е изследван и характеризирани като много подходящ за лабораторни изследвания на ензима неураминидаза в предишни изследвания на колектив от секция „Микробна биохимия” в Института. Резултатите са много добре илюстрирани с 12 таблици и 16 фигури.

В резултат на получените данни, асистент Стефан Енгибаров формулира 9 изводи и 6 приноси. Бих обобщила, че най-значим принос на разработката е подробното характеризирани на ензим неураминидаза, открит за първи път в щам на *Aeromonas caviae* и получените данни за синтеза на сиалови киселини в род *Aeromonas*. Всички изводи и приноси отразяват реално постиженията на дисертационния труд.

Част от резултатите от проведеното изследване са публикувани в 4 публикации (3 – в български списания, включително Доклади на БАН, IF:0.27 и Q4 – ранк в област Мултидисциплинарна наука по JCR и 1 в *Annals of Microbiology*, IF:1.232 и Q3 – ранк в област Приложна микробиология и биотехнология по SJR) и 1 глава от книга. Има два цитата. В четири от публикациите, докторантът е първи автор. Асистент Стефан Енгибаров е участвал в 5 научни форума с 4 доклада и 1 постер.

Общата научна продукция, за целия научен стаж на Стефан Енгибаров по подадения актуализиран списък включва 17 статии, 10 доклада и 9 постери. Общият му IF е 7.515, общият брой цитати – 37, а общият h-индекс е 3.

Към гореизброеното, докторантът е положил всички задължителни изпити и като цяло е събрал 430 точки по кредитната система за докторанти на БАН, при изискуеми 250 т.

В рецензията, представена от мен на вътрешната защита на докторанта бях отправила редица забележки, които са взети под внимание и в разработката са отразени необходимите корекции. На поставените въпроси съм получила изчерпателни отговори, така че нямам допълнителни въпроси.

Към докторанта и бъдещ „Доктор” имам следните препоръки:

- Като задача при бъдещото развитие на темата да бъдат проведени изследвания, с които да се установи патогенен или апатогенен е шамът-продуцент.
- В бъдещите разработки по-смело да се подчертава оригиналността на получените данни и приносният им характер.

Заключение

Считам, че в представеният дисертационен труд напълно е отразено изпълнението на поставените задачи, представените резултати са значителни по обем и са интерпретирани подробно и убедително. Разработката има завършен вид и съответства на всички научни изисквания. Докторантът е изпълнил националните законовите изисквания и конкретните условия в частта за придобиване на научната степен «Доктор» от Правилника за придобиване на академични степени и заемане на академични длъжности в Институт по микробиология на БАН. По тези причини, убедено предлагам на уважаемите членове на Научния съвет при Институт по микробиология „Стефан Ангелов” – БАН да гласуват положително за присъждане на образователната и научна степен „Доктор” на асистент Стефан Енгибаров.

20.05.2019 г.

Подпис:

/доц. Златка Алексиева/