

# РЕЦЕНЗИЯ

от проф. дбн Искра Витанова Иванова,

върху дисертационен труд, представен за защита пред научно жури за получаване на образователната и научна степен «доктор» в област на висше образование – природни науки, математика и информатика  
професионално направление - биологични науки  
докторска програма – клетъчна биология

**Автор на дисертационния труд:** *Павлина Яворова Средкова*

**Тема на дисертацията:** *“Имунодулаторни свойства на пробиотици и пребиотици”*

**Научен ръководител:** проф.д-р Балик Маломиров Джамбазов

## 1. Актуалност и значимост на дисертационната тема

Благоприятните промени в чревната микрофлора се дължат на увеличения брой бактерии от родовете *Bifidobacterium* и *Lactobacillus* известни като „пробиотици“. Интересът към тези микроорганизми се засилва още повече от факта, че те могат да метаболизират определени въглехидрати (пребиотици), които на практика са неразградими за еукариотните клетки и остават неувоени в човешкия организъм. Взаимодействието на чревните симбиотични микроорганизми (т.е. нормални представители на чревната микрофлора) с имунната система на гостоприемника е контактът им с епитела. Епителните клетки на червата експресират редица рецептори за разпознаване, които са отговорни за взаимодействието с антигените на микроорганизмите. Природата на това взаимодействие играе важна роля при определянето на посоката на имунния отговор към източника на тези антигени. В *lamina propria*, разположена директно подповърхността на епитела, са локализирани клетки на имунната система: миелоидни антиген-представящи клетки (APC) – дендритни клетки (DC) и макрофаги, Т- и В-лимфоцити, мастоцити, естествени клетки убийци и малък брой левкоцити от други субпопулации. Имайки предвид всички тези особености на пробиотиците, пребиотиците и тяхното влияние върху имунния отговор на организма, изучаването на имуномодулаторните им свойства е от изключително значение за здравето на човека и за борбата с редица

заболявания. Настоящата дисертация има принос именно към изясняване на имуномодулаторните свойства на някои пробиотици и пребиотици.

## 2. Оценка на структурата на дисертационния труд

Дисертационният труд е конструиран в традиционна форма със съответните раздели. Написан е на 105 стандартни компютърни страници, които включват 85 страници текст и 11 страници литература. Литературният обзор е изготвен целенасочено и конкретно и включва всички аспекти на изследването. В него са отразени 212 публикации (на латиница), кореспондиращи с всяка една от поставените задачи. Над 70% от статиите са публикувани след 2009 г.

### 2.1. Литературен обзор

Обзорът представя състоянието на проблема и доказва необходимостта от разработването на дисертационната теза. Анализирани и обобщени са голям обем научна информация, което показва много добрата теоретична подготовка на докторантката. В литературният обзор, последователно се разглежда мукозно-епителна бариера на гастроинтестиналния тракт и въздействието на пробиотици, пребиотици и синбиотици, техният механизъм на действие и имуномодулаторни свойства, както безопасност и потенциални рискове при използване на пробиотици.

### 2.2 Цел на дисертационния труд

Основна **цел** на настоящия дисертационен труд е да се изследва ефекта на различни пребиотици върху адхезията на някои пробиотични щамове от род *Lactobacillus* и имуномодулаторните им свойства при нормални физиологични условия и в условия на възпаление. За постигането на поставената цел бяха формулирани **7** конкретни, взаимно обвързани и логически следващи задачи.

### 2.3 Материали и методи

Разделът "Материали и методи" демонстрира набор от методи, съобразени с конкретните изисквания на експеримента. Те са както рутинни, така и съвременни и включват анализ на адхезивната способност на пробиотиците *Ex vivo* изследване на имуномодулаторните свойства на пробиотици и *Ex vivo* стимулиране, ензимно-свързан имуносорбентен метод (ELISA) и Флоуцитометричен анализ (FACS) за анализ на цитокини. Направен е статистичен анализ. Методите са описани

достатъчно подробно, за да могат да бъдат възпроизведени. Освен това са разбираеми и дават възможност за коректно провеждане на експериментите и получаване на достоверни резултати. Искам да подчертая, че настоящата разработка е достоверна и прецизна.

#### 2.4. Резултати и обсъждане

В раздел „Резултати и дискусия“ е включен експериментален материал, който е представен на 59 стр. и демонстрира мащабна изследователска дейност. Важно е да се отбележи, че разработката се характеризира с логическа последователност, отделните етапи са разработени обстойно и всеки от тях е база за следващия. Трябва да се подчертае още, че дисертацията е написана в много добър научен стил и коректно отразява получените резултати. Доказателственият материал е оформен професионално в 2 таблици и 30 фигури. Смятам, че получените резултати са убедителни и тяхната достоверност не подлежи на съмнение.

Адхезията към чревната повърхност се счита за една от основните характеристики на бактериите с пробиотичен потенциал. Това потвърждава необходимостта от проучване на факторите, които влияят върху адхезионните свойства на пробиотичните бактерии. Един от тези фактори могат да бъдат пребиотиците, които обикновено се прилагат в смес с пробиотици (синбиотици), за да се стимулира растежа и активността на бактериите в червата. Получените резултати показват, че бета-глюканите и хитозани драстично намаляват адхезивните свойства на *Lactobacillus rhamnosus* 1010, *Lactobacillus paracasei* 8458 и *Lactobacillus acidophilus* 11. От друга страна ксилоолигозахаридите и галактоолигозахаридите стимулират адхезията на изследваните млечнокисели бактерии към епителоподобните чревни клетъчни линии. Ябълковият пектин проявява щам-специфичен ефект – инхибира адхезията на *Lactobacillus rhamnosus* 1010 и *Lactobacillus acidophilus* 11, и не влияе върху адхезивните способности на *Lactobacillus paracasei* 8458. Инулинът не оказва влияние върху адхезията на изследваните щамове млечнокисели бактерии. Изследваните бактериални щамове се прикрепват много по-лесно към клетъчни линии LS 180 и НТ-29, отколкото към Сасо-2, което се дължи на способността за продукция на муцин от първите две клетъчни линии. Метаболитните продукти от

ксилоолигозахаридите водят до намаляване концентрацията на IFN- $\gamma$ , IL-6, IL-17 и TNF- $\alpha$  както при условия на възпаление, така и при нормално физиологично състояние. Метаболитните продукти от инулин, пектин и хитозан водят до повишаване концентрацията на IFN- $\gamma$ , IL-6, IL-17 и TNF- $\alpha$  като този ефект е най-силно изразен за пектина Нито един от изследваните пребиотици не повлиява пряко секрецията на антивъзпалителния цитокин IL-10. Метаболитни продукти от изследваните пребиотици повлияват основно макрофагите, като ефектите са пребиотик-специфични и щам-специфични. Метаболитните продукти от пектин и хитозан причиняват загуба на Т-клетки (CD3+) и повишена численост на регулаторните (CD4+CD25+) и анергични (CD8+CD279+) Т клетки.

Към достоинства на дисертацията трябва да се добави и умението на *Павлина Яворова Средкова* да отразява извършеното много ясно и коректно, да обсъжда получените резултати на фона на постигнатото от други автори. Това, разбира се, е възможно благодарение на много доброто познаване на проблема и задълбочената научна разработка.

## **2.5. Изводи и приноси**

Изводите са логично следствие от проведените експерименти. Според мен са формулирани в съответствие с постигнатото. Приемам описаните приноси.

## **2.6. Препоръки, забележки и въпроси**

Към докторантката имам следните въпроси:

1. Имате ли данни за усвояването на изследваните пребиотици от използваните пробиотични лактобацили?
2. Продуцират ли пробиотичните лактобацили антимикуробни вещества?
3. Култивирани ли са пробиотични лактобацили в присъствие на пребиотици в различно време и при различни температури?
4. Кой от засегнатите в дисертацията аспекти трябва да има приоритет при следващите научни разработки?

Според мен, извършените изследвания дават възможност да се открият сериозни теоретични приноси, както оригинални, така и приложни. Част от резултатите са включени в 2 научни публикации, като едно от тях с импакт фактор ( *Central European Journal of Immunology*). В двете публикации докторантката е на първо място. Представени са резултати в 1 научен форум. Тези данни ми дават основание да направя извода, че в основната си част, резултатите са дело на докторантката и научната общност е запозната с тях.

### **3. Придобита компетентност и съответствие с изискванията на образователната и научна степен „доктор”**

В хода на изпълнението на експерименталната работа и оформянето на дисертационния труд докторантката *Павлина Яворова Средкова* е придобила компетенции и умения, които могат да бъдат групирани по следния начин:

- разширила е теоретичната си компетентност в областта на имунологията и микробиологията
- придобила е умения за работа с научна литература, анализирайки и обобщавайки научна информация.
- обогатила е методичните си умения, особено в частта на прилагането на редица съвременни методи
- придобила е умения самостоятелно да оформя и дискутира резултатите, получени в хода на разработването на дисертацията, както и да прави изводи на базата на тях

### **4. Заключение**

Всичко това ми дава основание да смятам, че докторантката *Павлина Яворова Средкова* е придобила компетенциите и уменията, които се изискват за придобиване на образователната и научна степен „доктор”. Смятам, че обемът на този труд е достатъчен, направени са много анализи, получени са ценни резултати, направени са важни изводи, а изследването има научно-приложни приноси.

Въз основа на гореизложеното, както и предвид Правилника за приложение на закона за развитие на академичния състав в Република България и този на

Пловдивския Университет «Паисий Хилендарски» считам, че настоящият труд отговаря на изискванията за докторска дисертация, оценявам го положително и препоръчвам на уважаемите членове на Научното жури, сформирани със заповед Р 33-5007/20.10.2017 на Ректора на Пловдивския Университет «Паисий Хилендарски» да присъдят образователната и научна степен «доктор» в област на висше образование – природни науки, математика и информатика, професионално направление - биологични науки, докторска програма – клетъчна биология.

22.11.2017 г.

Рецензент:

София

Проф. Искра Иванова, дбн