

# **СТАНОВИЩЕ**

от д-р Иван Генов Пищийски, професор, УХТ, Пловдив

на дисертационен труд за присъждане на образователната и научна степен 'доктор'

в област на висше образование 4. Природни науки, математика и информатика

профессионално направление 4.3 Биологически науки докторска програма Биохимия

**Автор:** Даниела Георгиева Моллова-Дошкова

**Тема:** Изследване влиянието на структурно-функционалните свойства на олигозахариди върху ензимната кинетика на микробиални гликозидхидролази, продуцирани от лактобацили, изолирани от микробиота на кърмачета.

**Научен ръководител:** проф.д-р Илия Илиев, доц. д-р Тонка Василева ПУ, гр. Пловдив

## **1. Общо представяне на процедурата и докторанта**

Със заповед на Ректора на ПУ "Паисий Хилендарски" съм определен за член на жури за осигуряване на процедура за защита на дисертационен труд на тема "Изследване влиянието на структурно-функционалните свойства на олигозахариди върху ензимната кинетика на микробиални гликозидхидролази, продуцирани от лактобацили, изолирани от микробиота на кърмачета." за придобиване на образователната и научна степен "доктор" в област на висше образование 4. Природни науки, математика и информатика; профессионално направление 4.3 Биологически науки; докторска програма Биохимия. Автор на дисертационния труд е Даниела Георгиева Моллова-Дошкова, редовна докторантка към катедра "Биохимия и микробиология" с научни ръководители проф.д-р Илия Илиев, доц. д-р Тонка Василева от ПУ, гр.Пловдив

Представеният от докторантката Даниела Георгиева Моллова-Дошкова комплект материали е в съответствие с Чл. 36 (1) от Правилника за развитие на академичния състав на ПУ и включва всички документи, които са необходими за разкриване на процедура за защита на дисертационния труд. От представените кратки биографични данни става ясно, че биологическите науки заемат централно място в образователните степени, а след това и в ежедневната дейност на докторантката. Натрупаният по този начин опит се явява важна предпоставка за успешно справяне с поставените изследователски цели и задачи.

## **2. Актуалност на тематиката**

Интересът на научната общност към появата на нов живот и неговите проявления има многогодишна история. Това не е случайно и е свързано с една от основните функции на човешкия род – неговото продължаване. Учените са си задавали редица въпроси – какво има в състава си майчиното мляко, което осигурява безпроблемния растеж и развитие на младия

организъм, в какъв вид то съществува, по какъв начин отделните съставки пълноценно се усвояват, кой предпазва новороденото от заобикалящите го патогени и още много други въпроси. По-голяма част от тях са намерили своя отговор, но тайните на живата природа продължават да будят интереса на учените. Затова допринасят и нараствалите възможности на аналитичните методи и техники, които позволяват да се надникне много по-детайлно и по-дълбоко в същността на изучаваните процеси и механизми. Освен това не трябва да се подминава фактът, че развитието на човешкото общество води до промени и в раждането и отглеждането на новородените детски организми, които също заслужават да бъдат проучени. Всичко това ми дава достатъчно основание да считам, че избраната тематика е в съзвучие със съвременните тенденции в тази област.

### **3. Познаване на проблема**

Интересът към факторите, които влияят върху здравния статус на човек от неговото раждане до дълбока старост датира от началото на миналото столетие, с тенденция за непрекъснато нарастване. Човешкият организъм е една сложна биологична система, която функционира безотказно благодарение на присъствието във всяка клетка на набор от биологично активни вещества, познати като ензими, притежаващи уникални свойства. Те са обект на нестихващ интерес повече от две столетия.

Докторантката е отчела тези факти и в един добре структуриран, аналитичен и тематично безупречно подреден обзор, с над 280 източника, представя във възможно най-обобщен вид съществуващите литературни данни, касаещи всички аспекти от тематиката на дисертационния труд. Това тя прави с вещества и въпреки особеностите на част от научната терминология тя обсъжда и интерпретира публикуваните резултати на достъпен и разбираем език, което е доказателство за отлично владеене на същността на материалите, попаднали в нейния обзор и свободно боравене с тях.

### **4. Методика на изследването**

Разнообразието от задачи, които трябва да се решават в хода на разработката е наложило овладяването и включването в арсенала на докторантката, както на класически така и на съвременни аналитични методи и техники. Много от методите налагат да се работи с минимални количества от съответните реактиви, което изисква висока степен на прецизност. Достоверността на част от получените резултати се гарантира от съвременното високо ниво на използваните молекулярно биологични методи. В преобладаващата част на аналитичните практики, особено за ензимните активности, обективността на данните се осигурява от високата точност на техническите средства, а не от възможностите на човешкото око. Всичко това ми дава достатъчно основание да приема, че използваниите методи са адекватни на нуждите на проведените изследвания.

### **5. Характеристика и оценка на дисертационния труд и приносите**

В дисертационния труд се поставя амбициозна цел, която изисква провеждането на значителни по обем и мащаби проучвания. При това докторантката не получава нищо в готов вид. Тя тръгва от нулема точка и изминава дълъг и сложен път до крайния пункт. Всеки етап от този път трябва да бъде преминат успешно, за да продължи следващият. Никой от тях не може да бъде прескочен или заобиколен.

Процесът на научното дирене стартира с изолирането на лактобацили от майчина кърма и слюнка на новородено. След тяхната първична характеристика са отделени определен брой изолати, които са подложени на биохимична и молекуларно биологична идентификация. В резултат на това са подбрани 19 щама от всички установени видове бактерии. Следващата стъпка включва изследване на техния ензимен профил и пробиотичен потенциал. Това е важна тяхна характеристика, тъй като дава възможност да се оцени способността им да усвояват основните въглехидратни компоненти на майчиното мляко – лактоза и полизахариди, които между другото се оказват и най-силният индуктор за експресията на  $\beta$ -галактозидазата. Индуцируемият характер на ензима е потвърден и в други допълнителни изследвания, при които е установено, че подобно свойство притежават още  $\alpha$ -галактозидазата и  $\beta$ -глюкозидазата. То се оказва специфичен белег за щамовете *L. fermentum*, изолирани от майчина кърма.

Известно е, че олигозахаридите в кърмата са структурно разнообразни неконюгиирани гликани, изградени основно от лактоза и L-фукоза, свързани в различни комбинации. Това означава, че за тяхното усвояване е необходим специфичен набор от ензими, който е установено, че притежават изолираните от кърмата лактобацили за разлика от специфичния пробиотичен щам на *L. plantarum*, отличаващ се с висока пластичност при въглехидратния метаболизъм. Особено внимание заслужават приносите с пионерен характер – доказването при два от изолираните щамове на *L. fermentum* на гена *afcA*, който кодира ензима  $\alpha$ -L-фукозидаза и на индуцирацият ефект на част от състава на кърмата при секрецията на фукозидазата от изолираните щамове. Своята научна стойност имат и изследванията за антибактериална активност, за толерантността спрямо pH и присъствието на жълчни соли и на адхезивните свойства на подбранныте щамове.

Всичко изброено дотук ми дава основание да отбележа, че са проведени обемни, широкомащабни изследвания в резултат на които са получени резултати, заслужаващи вниманието на научната общност.

Представените три групи научни приноси – оригинални, потвърдителни и научно-приложни са действителен резултат от проведените научни изследвания и отразяват коректно тяхната същност. Приемам ги без забележки и ги оценявам високо, защото те допринасят за изясняване на част от процесите и механизмите, по които функционира сложният човешки организъм

## **6. Преценка на публикациите и личния принос на докторанта**

Докторантката представя 2 публикации, едната от които е под печат, а другата е в списание с импакт фактор. В едната публикация Д. Моллова–Дошкова е водещ автор, а в другата – съавтор. В тях са отразени част от резултатите на дисертацията. По този начин се покриват изискванията на Биологическия факултет за присъждане на научната степен ‘доктор’.

## **7. Автореферат**

Авторефератът напълно достоверно и коректно отразява публикуваните в дисертационния труд резултати и дискусията по тях. Считам, че той дава достатъчно пълна представа за проведените изследвания и постигнатите приноси.

## **ЗАКЛЮЧЕНИЕ**

Дисертационният труд *съдържа научни, научно-приложни и приложни резултати, които представляват оригинален принос в науката и отговарят на всички изисквания на Закона за развитие на академичния състав в Република България (ЗРАСРБ), Правилника за прилагане на ЗРАСРБ и съответния Правилник на ПУ “Паисий Хилендарски”*. Представените материали и дисертационни резултати **напълно** съответстват на специфичните изисквания на Биологическия факултет, приети във връзка с Правилника на ПУ за приложение на ЗРАСРБ.

Дисертационният труд показва, че докторантката Даниела Георгиева Моллова–Дошкова **притежава** задълбочени теоретични знания и професионални умения по научна специалност Биохимия като демонстрира качества и умения за самостоятелно провеждане на научно изследване.

Поради гореизложеното, давам убедено своята **положителна оценка** за проведеното изследване, представено по-горе от дисертационен труд, автореферат, постигнати резултати и приноси, и **предлагам на почитаемото научно жури да присъди образователната и научна степен “доктор”** на Даниела Георгиева Моллова–Дошкова в област на висше образование 4. Природни науки, математика и информатика; професионално направление 4.3 Биологически науки; докторска програма Биохимия

10.09. 2019 г.

**Изготвил становището:**

(проф. д-р Иван Пищийски)