

РЕЦЕНЗИЯ

на дисертационен труд на **асистент Миглена Николаева Тодорова**

от Катедра “Биохимия, молекулна медицина и нутригеномика”,
Факултет по фармация, Медицински университет „Проф. д-р Параскев
Стоянов” – Варна

на тема:

**“Получаване на богат на антоцианини екстракт от плодове на бъзак
(*Sambucus ebulus*) и охарактеризиране на биологичната му
активност с оглед използването му като суровина при
производството на храни и лечебни средства”**

представен за присъждане на научна степен “ДОКТОР”
по научна специалност „Биохимия”, в област на висшето образование
4. „Природни науки, математика, и информатика”,
професионално направление 4.3. Биологически науки

изготвена от Доц. д-р Анелия Веселинова Биволарска, дб,
Катедра Биохимия, Фармацевтичен факултет,
Медицински Университет - Пловдив,
e-mail: anelia.bivolarska@mu-plovdiv.bg

Представеният комплект материали на хартиен и електронен носител е в пълно съответствие с Процедурата за придобиване на ОНС „доктор“ в МУ – Варна.

1. БИОГРАФИЧНИ ДАННИ ЗА КАНДИДАТА

Миглена Тодорова е родена през 1973 година. Завършила е образователна степен “магистър” по Биология и химия в Шуменския университет „Епископ Константин Преславски”, придобила е и магистърски степени по Индустриални биотехнологии и Анализ и контрол на храните и водите в университет “проф. д-р Асен Златаров”, Бургас. След успешно положен конкурсен изпит за асистент през май 2015, Миглена Тодорова е назначена като асистент по биохимия в Медицински университет – Варна. Същата година е зачислена за специализация по биохимия, а от 2017 за докторант по биохимия в самостоятелна форма на обучение към Медицински университет “проф. д-р Параскев Стоянов” - Варна. Владее на добро ниво английски и на много добро руски език. Извършила е мобилност по програма Еразъм+ в Националния университет по фармация в Харков, Украйна.

Научните интереси на ас. Тодорова и тематиката на дисертационния ѝ труд се формират под въздействие и благодарение на разработваната в катедрата научна тематика с участието ѝ като член от

научните екипи по: проект на фонд "Наука" на МУ-Варна под ръководството на доц. Йоана Киселова-Кънева през 2017 г. и друг проект под ръководството на проф. Диана Иванова към Фонд научни изследвания на МОН през 2016 г.

2. АНАЛИЗ НА ДИСЕРТАЦИОННИЯ ТРУД

АКТУАЛНОСТ НА НАУЧНИЯ ТРУД:

По данни на СЗО около 80% от населението на Земята използва билките като лечебно средство, а около 40% от лекарствените средства са фитопрепарати. От около 250 000 висши растения известни в света, фитохимичен състав и биологична активност са изследвани само на около 5 до 15%. Проучването на взаимовръзките между съществуващите емпирични данни от народната медицина и механизма на лечебното действие на растенията прави поставения проблем изключително актуален, особено предвид рисковете от некомпетентното им използване.

Плодовете на *Sambucus ebulus* (бъзак) се използват в народната медицина, но липсват научни доказателства за ефектите върху процесите на адаптация, съдържанието на биологично активни съединения, както и за възможните молекулни механизми, чрез които екстрактите на растението изявяват своето биологично действие. Изучаването на молекулните ефекти на лечебните растения и на техните биологично-активни компоненти е от съществено значение за развитието на науката за храненето, биотехнологията и фармацията.

В българските традиции съществува голямо разнообразие от рационални подходи, които водят до подобряване на хранителния режим и здравословното състояние на хората. Сред тях са използването на различни билки като подправки или прием на отвари и извлеци от лечебни растения като чай, които имат антивъзпалителен, антиоксидентен, антиобезен, противодиабетен и други положителни ефекти.

Ето защо изследванията, проведени от докторантката с екстракти от плодовете на добре познатото в традиционната народна медицина лечебно растение, бъзак (*Sambucus ebulus*), имат важно значение за разкриването на точния фитохимичен състав и на активните фитохимични комплекси, присъстващи в плодовете на бъзака и тяхната биологична активност. Тези научни изследвания се явяват продължение и задълбочаване на проучванията, които от години са обект на научните търсения в катедрата върху химичния състав и биологичните ефекти на български лечебни растения като потенциален ресурс за диетологията, медицината и фармацията.

Убедено смятам, че дисертационният труд на Миглена Тодорова е актуален, тъй като проведените от докторантката изследвания с *in vitro* модели на възпаление чрез стимулиране с липополизахариди клетъчни култури на макрофаги, дават съвсем нова информация за ефектите на екстракти от плодовете на бъзак върху гената експресията на ключови

протеини, участващи и регулиращи процесите на антиоксидантна защита, възпаление и фагоцитоза.

ОПИСАНИЕ НА ДИСЕРТАЦИЯТА:

Представеният ми за рецензиране дисертационен труд е написан на 240 страници, илюстриран е с 53 фигури и 63 таблици. В дисертацията са цитирани общо 366 литературни източници, 3 от които са на кирилица, а останалите на латиница. Прави впечатление актуалността на литературните източници като около 50% от тях са публикувани през последните 10 години (от 2009), а около 13% са от последните 5 години (от 2014). Дисертационният труд е структуриран добре и се характеризира с добре балансирани части.

ЛИТЕРАТУРЕН ОБЗОР

Много добро впечатление прави задълбоченият литературен обзор на дисертационния труд, богат с информация и анализ на научната литература по разглежданите проблеми. Разгледани са биологично активните фенолни съединения в плодовете на растения, тяхното изолиране и фракциониране, както и подробен анализ на методите за анализ на фитохимичния състав и определяне на антиоксидантната активност на фенолните компоненти. Обърнато е внимание на биологичната активност на антоцианинови пигменти в екстракти от плодове и техните механизми на действие при осъществяване на многостранните им биологични дейности – противотуморно, противовъзпалително и антиоксидантно действие. Актуална информация е представена в тази част от обзора, отнасяща се до ботаническите и фитотерапевтични данни за *Sambucus ebulus*. В края на литературния обзор е представено обобщение на представената информация, на основата на което са изведени целите и задачите на дисертацията.

ЦЕЛ И ЗАДАЧИ

От изчерпателния и информативен литературен обзор ас. Тодорова извежда целта и задачите на дисертационния труд. Целта и задачите са ясни, конкретни и логични. Прави много добро впечатление логичната последователност и цялостта в разработването на дисертационния труд.

МАТЕРИАЛИ И МЕТОДИ

Разделът “Материали и методи” обхваща 16 стр. и е развит подробно и задълбочено, с изчерпателност, която дава възможност за възпроизводство на повечето лабораторни методи.

За решаване на задачите в дисертацията са овладени методите за получаване на растителни екстракти и тяхното фракциониране, за фитохимичен анализ, за едновременна идентификация и количествено определяне на фенолните съединения в екстрактите с хроматографски метод с тандемна UV и масселективна детекция, методи за определяне на антиоксидантната активност на екстрактите, методи на клетъчно култивиране. Основната група изследвания за определяне на

биологичната активност на екстрактите са проведени при клетъчни култури от макрофаги, които биват третирани със стимулиращи фактори и различни екстракти от плодовете на бъзак.

При реализиране на задачите са използвани разнообразие от стандартни спектрофотометрични биохимични анализи и от съвременни молекулярно-биологични методи като количествен PCR в реално време (qRT-PCR) и др.

Използваните статистически анализи удовлетворяват и са адекватни за изследванията в дисертацията.

РЕЗУЛТАТИ И ОБСЪЖДАНЕ

Най-обширната част от дисертацията е разделът „Резултати и обсъждане” – 122 стр. Тук най-добре проличава големия обем работа извършен при разработването на дисертацията и се очертават основните резултати с научна значимост. Обсъжданията на резултатите от отделните проучвания са правени непосредствено след представяне на резултатите и се характеризират със задълбоченост и аналитичност.

Много добро впечатление прави последователността в разработването и надграждането на експериментите, които постепенно предоставят доказателства за антиоксидантното и противовъзпалително действие на екстрактите от плодове на бъзак. Освен това смятам, че обсъждането на получените резултати е направено аналитично, в дълбочина и с разбиране на вътреклетъчните процеси и взаимовръзки между тях.

Първоначалните изследвания на концентрацията на тотални полифеноли, флавоноиди, антоцианини и на антиоксидантните свойства на тотални екстракти, хидрофилна фракция и антоцианинова фракция от различни местности в сухи и замразени проби, дават основание на докторантката да вземе решение в следващите *in vitro* изследвания. В тях тя проучва ефектите на замразените плодове от м. Шкорпиловци, които имат относително най-висока антиоксидантна активност и общи полифеноли. За да може обективно да бъдат оценени самостоятелните ефекти на извлеките при планирания клетъчен модел, са проведени поредица от предварителни изследвания за определяне на нетоксичните концентрации на използваните в експеримента екстракти и LPS.

Проучванията за доказване протективното действие на плодовете от бъзак върху макрофажна клетъчна линия в модели на LPS-индуциран оксидативен стрес и възпалителен отговор убедително доказват, че тоталният екстракт и пречистената антоцианинова фракция от плодове на *Sambucus ebulus* модулират експресията на ключови антиоксидантни ензими, понижават индуцираната от LPS експресия на белтъци, пряко свързани с контрола и протичането на възпалителния процес, понижават индуцираната от LPS експресия на ензими, участващи в процеса на фагоцитоза. Тези резултати водят до изводи с оригинален приносен характер относно антиоксидантното и противовъзпалително действие на екстрактите от плодове на бъзак като най-изявено цитопротективно и пролиферативно действие има обогатената на антоцианини фракция – оригинален извод с приносен характер.

С разработения хроматографски метод е установено съдържание на три свободни полифенолни съединения - епикатехин, кверцетин и кемпферол в тотален ацетонов екстракт от зрели плодове на *Sambucus ebulus*.

Получените резултати са много и водят до относително голям брой изводи - 12. Смятам, че тези изводи напълно отговарят на получените резултати.

3. ПРИНОСИ И ЗНАЧИМОСТ НА РАЗРАБОТКАТА ЗА НАУКАТА И ПРАКТИКАТА

Дисертационният труд на ас. Миглена Тодорова има значителен обем от оригинални приноси за фундаменталната биомедицинска наука. Освен това, резултатите от тази дисертация могат да бъдат взети под внимание и при решаването на съвсем практически задачи. Особено внимание бих искала да отдам на приносите, които биха имали значение за практиката: разработената и оптимизирана екстракционна процедура за получаване и пречистване на антоцианинова фракция може да се прилага при екстракция на полифенолни съединения и от други лечебни растения в катедрата. Приемам приносите изведени от дисертационния труд.

4. ПУБЛИКАЦИОННА АКТИВНОСТ СВЪРЗАНА С ДИСЕРТАЦИОННИЯ ТРУД

Списъкът на публикациите, свързани с дисертационния труд включва 3 статии, 2 от които в списания с ИФ (общ ИФ = 1.225). Резултатите от дисертационния труд са представени на 5 научни форуми. Докторантката е първи автор на 2 от публикациите (една с ИФ) и втори в останалата. Представящ автор е и на 4 от научните съобщения. Този преглед доказва безспорния личен принос на докторантката в осъществяването на изследванията, в анализирането на резултатите и в подготовката на научните статии и съобщения.

5. АВТОРЕФЕРАТ

Запозната съм с автореферата и намирам, че той отразява напълно и адекватно съдържанието и постиженията на дисертацията.

6. КРИТИЧНИ БЕЛЕЖКИ

Нямам критични бележки по дисертацията. Дребните правописни грешки, липсата на страница с използваните съкращения и грешките в номерацията в съдържанието, които забелязах в дисертационния труд по никакъв начин не променят моето впечатление за отличната работа, която е представена в дисертационния труд на Миглена Тодорова и не променят моята висока оценка за нея.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Представеният дисертационен труд на ас. Миглена Николаева Тодорова на тема: „Получаване на богат на антоцианини екстракт от плодове на бязак (*Sambucus ebulus*) и охарактеризиране на

биологичната му активност с оглед използването му като суровина при производството на храни и лечебни средства" е актуален, оригинален, с логична постройка, с ясно формулирани и прецизно изпълнени задачи, с достоверни и възпроизводими резултати. Материалът е обработен статистически, като голяма част от направените изводи и приносите имат оригинален характер. Достоинствата на дисертационния труд и изпълнените изисквания за необходимите количествени и качествени критерии съгласно ЗРАСРБ, ППЗРАСРБ и Правилника за развитие на академичния състав в МУ-Варна, ми дават **пълно основание** да предложа на уважаемите членове на научното жури да присъди на **Миглена Николаева Тодорова** образователната и научна степен „ДОКТОР“.

05.08.2019 г.

Рецензент.....
(Доц. д-р Анелия Биволарска, дб)