

СТАНОВИЩЕ

От Доц.Татяна Янкова-Манолова, д.б.

Член на научното жури, определено със Заповед № Р-109-216/10.07.2019

на Ректора на МУ-Варна

Относно: дисертационен труд на **Миглена Николаева Тодорова** за присъждане на образователната и научна степен "доктор" по научната специалност Биохимия 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"**.

1.Оценка на актуалността на темата

Растението Бязак (*sambucus ebulus*) е познато отдавна в българската народна медицина като лечебно средство при заболявания на стомашно-чревния тракт. То е билка известна още с противовъзпалително, антисептично, диуретично, имуномодулиращо и имуностимулиращо действие. Поради повсеместното си разпространение бязакът е използван отдавна за направата на сокове, мармалади или сушени плодове за направата на чай. Многогодишният интерес на част от сътрудниците на катедрата по биохимия, молекулярна медицина и нутригеномика към тази билка е разбираем и е насочен към това на основата на изследване и изясняване на фитохимичния състав и биологична активност на компонентите да се съберат научни доказателства за използването ѝ като функционална храна, превантивно и допълващо лечебно средство при някои заболявания. Разработваните в дисертационния труд проблеми са актуални в научно и научно-приложно отношение поради факта, че все още липсват достатъчно научни доказателства за биологичните ефекти и молекулярните механизми на действие на антоцианиновите фракции на плодовете на *sambucus ebulus*. Чрез планираните и реализирани изследвания дисертантката цели да покаже кои компоненти на имунната система се повлияват от антоцианиновата фракция и какви регулаторни механизми на генетично ниво са въввлечени. Интересът ѝ се насочва още към гените на антиоксидантната система,

възпалителния отговор и фагоцитозата. Резултатите от подобни изследвания са предпоставка за по-широко приложение във фитотерапията, за дизайн на ново поколение лекарства, както и за целите на профилактиката и здравословното хранене. Затова считам, че темата е актуална, което дисертантката обосновава с подробния литературен обзор. Целта на работата е точно очертана - да се получи и пречисти антицианинова фракция от плодовете на *E.ebulus* и *in vitro* да се изследва биологичната активност на получената фракция. Така се оформят две основни задачи. Първата задача се състои в това да се получи, фракционира и охарактеризира екстракт от плодовете на бъзака. Втората задача е изследване на биологичната активност както на общия екстракт, така и на хидрофилната и антоцианиновата фракция в модел на клетъчна култура след третиране с бактериални LPS.

2. Оценка на резултатите

За реализиране на поставените цели дисертантката е заложила на оптимизиране на екстракционната процедура, която да обезпечи получаването на екстракт и антоцианинова фракция със запазена биологична активност. Методът, който тя избира за екстракция осигурява максимално стабилността на антоцианините. Пречистването на хидрофилния екстракт с твърдофазна екстракция, концентриране и изпаряване на получените екстракти е осигурило минимална деградация или промяна на нативното състояние на биологично активните вещества. За определяне на фитохимичния състав е използвана течна хроматография с мас-селективна детекция. От представените данни за валидиране на разработения хроматографски метод за идентификация и количествено определяне на 7 полифенола в екстракти от плодове на бъзак се вижда, че той е бърз, прецизен, точен и селективен. С разработения LC-PDA-MS метод в тотален ацетонов екстракт от зрели плодове на бъзак се определят три полифенолни съединения- епикатехин, кверцетин и кемпферол. Аргументиран е изборът на всеки един от методите с посочване на достоинства му и ограниченията. За оценка на антиоксидантната активност на екстрактите *in vitro* дисертантката използва два метода за сравнение -ABTS и DPPH. Този подход показва критичността и отговорността на дисертантката при представянето на резултатите от изследванията. След обсъждане на тяхните предимства и недостатъци се достига до извода, че екстрактите и обогатената на антоцианини фракция на бъзак от

замразени плодове от м.Шкорпиловци има по-добър антиоксидантен профил от изсушените. Това е основание изследванията да продължат с този биологичен материал. Изборът на експериментален модел за изследване на протективното действие на екстракти от бъзак в модел на индуцирана цитотоксичност, дисертантката мотивира с познанието, че възпалението е обединяващото звено между редица състояния поради което изследваните вещества, повлиявайки процеса на възпаление ще намалят вероятността от усложнения. Резултатите от изследването показват, че всички изследвани фракции проявяват цитопротективно и пролиферативно действие при J774A.1 макрофаги в модел на LPS индуцирана цитотоксичност. Най-голям интерес от гледна точка на механизмите на действие на полифенолите от трите изследвани групи предизвикват резултатите от генната експресия на ензимите от метаболизма на глутатион, белтъци, пряко свързани с протичане на възпалителния процес, както и на фагоцитарните ензими. Доказва се, че както тоталният екстракт така и антоцианиновата фракция проявяват имуномодулиращо действие като индуцират генната експресия на белтъци, пряко свързани с контрола и протичането на възпалителен процес.

3. Оценка на приносите

Приемам приносите, формулирани на базата на така представените резултати. Приемем и тези, свързани с получаване, фракциониране и охарактеризиране на плодове от бъзак, защото само на основата на прецизно избрани, валидирани и с доказана специфичност методи, които дисертантката може да предложи на научния свят, могат да се получават сравними резултати. Приносите имат както теоритична така и приложно-научна стойност и отразяват най-важните постижения на труда. Те се отнасят към категорията получаване и доказване на нови факти съгласно изискванията на МУ-Варна.

По темата на дисертацията са представени три публикации (едната под печат), в две от които дисертантката е първи автор. Представените публикации са според изискванията. Отличават се с добро качество и отговарят по съдържание на справката за научните приноси.

4. Критични бележки и препоръки към дисертационния труд

Положен е голям труд и аз нямам критични бележки по същество. Смятам обаче, че работата щеше да спечели ако дисертантката се беше концентрирала на влиянието на екстрактите върху експресията на гени, свързани само с възпалителния отговор и евентуално с фагоцитозата и се бе задълбочила в разкриване на механизми, свързани с регулацията на молекулно ниво. Авторефератът би спечелил, ако обсъжданията бяха по кратки и внимателна проверка би избегнала многото стилови и други грешки. Тези забележки не променят мнението ми за научната и научно-приложна стойност на получените в дисертационния труд резултати.

5. Заключение

След като се запознах основно с предоставените ми материали считам, че е направено едно широко проучване върху плодовете на бъзак. Резултатите от тези изследвания са със значение за практиката, приносите са с научна и научно-приложна стойност. Представеният дисертационен труд отговаря на изискванията на закона и правилника за приложението му за придобиване на образователната и научна степен „доктор“. Миглена Тодорова е изграден специалист по биохимия и показва, че е в състояние да си поставя важни научни задачи и да извършва значими и съвременни биохимични и молекулярно-биологични изследвания. Затова аз убедено ще гласувам положително за присъждането на образователната и научна степен „доктор“ по Биохимия на Миглена Николаева Тодорова.

19.08.2019

Подпис:

(Доц.Татяна Янкова-Манолова)