

РЕЦЕНЗИЯ

на дисертационен труд, представен за защита по процедура за придобиване на образователна и научна степен „доктор” в професионално направление 4.3. Биологически науки (Физиология на животните и човека)

Тема: Регулация на чернодробна и бъбречна диаминооксидаза от тестостерон, аминокуанидин, синтази на азотен оксид и въглеродни наночастици

Автор: Милена Янкова Мишонова, докторант на самостоятелна подготовка

Научен ръководител: проф. д-р Христо Гагов

Рецензент: доц. д-р Мариела Годорова Чичова, Биологически факултет на СУ „Св. Климент Охридски”

1. Общо представяне на процедурата и докторанта

Представеният комплект материали на хартиен и електронен носител е в съответствие със Закона за развитие на академичния състав в Република България, на Правилника за неговото прилагане и на Правилника за условията и реда за придобиване на научни степени и заемане на академични длъжности в СУ „Св. Климент Охридски”.

Милена Мишонова придобива ОКС „магистър“ по Физиология на животните и човека, специализация Ендокринология, през 2001 г. в Биологически факултет на СУ „Св. Климент Охридски“. От 2001 до 2002 г. работи като биолог в катедра Физиология на животните и човека към Биологически факултет, през 2002-2009 г. е на длъжност асистент, през 2009-2011 г. – старши асистент, през 2011 – 2015г. – главен асистент, от 2015 г. до момента – асистент в същата катедра. Научен ръководител е на четири дипломни работи. През целия период участва в научни изследвания, които в голяма степен са свързани с темата на дисертационния труд. Работата по докторантурата е извършена в лаборатории на катедра Физиология на животните и човека на Биологически факултет, СУ „Св. Климент Охридски“.

2. Актуалност и значимост на дисертационната тема

Биогенните полиамини са намерени във всички прокариотни и еукариотни клетки, като са доказани изключително важните им регулаторни ефекти върху клетъчния растеж, диференциация и смърт, повлиявайки процесите на всички нива – от генната транскрипция до белтъчния синтез. Установена е критичната роля на полиамините и техни метаболити в редица заболявания при човека – болест на Алцхаймер, болест на Паркинсон, чернодробна цироза, хронични бъбречни увреждания и др. Според данни в научната литература от една страна свободните форми на полиамините могат да активират оксидативни катаболитни пътища, а от друга – да изпълняват важна защитна функция срещу оксидативните увреждания. Съдържанието на свободните полиамини е подложено на строга регулация чрез

координация на биосинтеза, катаболизма и транспорта им, осъществяваща се и чрез промени в активността на ензимите, катализиращи тези процеси. Ключов и строго контролиран ензим от терминалното окисление на полиамините е диаминооксидазата, катализираща окислителното дезаминиране на първични аминок групи с предпочитани субстрати путресцин, хистамин и кадаверин. Предполага се, че физиологичната роля на този ензим е извеждане на полиамините от цикличния процес на тяхното метаболизиране и отстраняване на излишъка от путресцин и хистамин. Експресията на диаминооксидазата се регулира от много фактори, включително от плазмените катехоламини и някои хормони.

Участието на полиамините в метаболитни пътища при физиологични и патофизиологични състояния прави тях, както и ензимите, въввлечени в метаболизма им, актуални обекти за биохимични, физиологични и фармакологични изследвания.

Обект на представения дисертационен труд е субстратната специфичност на ензима диаминооксидаза и регулаторните влияния на тестостерон, аминокгуанидин, синтазите на азотен оксид и на въглеродни наночастици върху неговата активност в черен дроб и бъбреци на полово незрели плъхове. Темата е свързана с развитието на научните изследвания на физиологичните ефекти на полиамините и доказва актуалността на разработваната проблематика.

3. Оценка на структурата на дисертацията

Дисертационният труд е с обем 130 стр., от които основен текст – 105 стр., списък на използваните литературни източници – 18 стр., други приложения – 7 стр., (в т.ч. списък с използваните съкращения, декларация за оригиналност на резултатите и справка за публикационната активност). Работата е структурирана по общоприетия за такъв труд модел, като включва следните части: „Литературен отбор” (61 стр.); „Цел и задачи”, „Материали и методи” (6 стр.), „Експериментални резултати” (17 стр.), „Обсъждане” (18 стр.), „Изводи” и „Приноси”. Научните факти в обзора и получените резултати са илюстрирани с 25 фигури и схеми и 4 таблици. Представени са 10 извода и 5 приноса. Литературната справка съдържа 305 цитирани източника, част от които са публикувани след 2010 г., което показва актуалността на изследвания проблем. Текстът е написан в добър научен стил, с подходяща терминология, което предполага, че докторантът е добре запознат с тематиката в съответната научна сфера.

Приложеният Автореферат е с обем на основния текст 33 стр. Той отразява основните акценти в получените резултати и обсъждането им с включени 12 фигури и 1 таблица и отразява пропорционално и адекватно същността на дисертационния труд.

Литературният обзор е подробен, задълбочен и интересен. В няколко раздела той представя: данни за полиамините – техните характеристики, функции и механизмите на

регулацията на метаболизма им; данни за структурата и физиологичната роля на ензима диаминооксидаза, за основни регулатори на активността му, за влиянието на половите стероиди върху метаболизма му; данни за азотния оксид като сигнална молекула и за регулацията на синтеза му. В последната част е представена информацията относно въглеродните наночастици и техният потенциал за приложение в медицината и биотехнологията. Като цяло анализът на тематиката по отношение на поставената от докторанта научна цел е компетентен и задълбочен.

Целта на дисертационния труд е да се изследва субстратната специфичност на диаминооксидазата и да се проследи регулаторното влияние на тестостерон, аミノгуанидин, синтази на азотен оксид и на въглеродни наночастици върху нейната активност в черен дроб и бъбреци на полово незрели плъхове. Определянето на целта логично следва литературния обзор. За постигането ѝ докторантът поставя 8 ясно и точно формулирани задачи, първата от които е определяне на субстратната специфичност на изследвания ензим в два вида тъкани – черен дроб и бъбреци, на мъжки и женски полово незрели плъхове. Следващите задачи предлагат добре обмислени изследвания на механизмите на регулацията на диаминооксидазата с проследяване на влиянието на тестостерон, на блокери на андрогенните рецептори и на орнитиндекарбоксилазата, в контролни условия и при съвместно третиране с тестостерон, върху активността на ензима. Изясняването на регулаторните механизми се задълбочава чрез включване на изследвания на ефектите на инхибитора аミノгуанидин и синтазите на азотен оксид, включително и на вътреклетъчната му сигнална верига, върху диаминооксидазата. Последната задача предвижда оценка на влиянието на въглеродни наночастици върху активността на ензима.

В раздел **Материали и методи** са описани подробно използваните методики, което позволява проследяването на експерименталните подходи, и при желание, тяхното възпроизвеждане. Методите са съобразени с конкретните задачи и предполагат задълбочено проучване на избраната тема, както и надеждност на получение резултати. Експерименталните подходи са разделени на две групи – *in vivo* и *in vitro* условия. В експериментите *in vivo* въвеждането на изследваните вещества в опитните животни се извършва 4 часа преди изолирането на тъканите. Посочени са и методите за статистическия анализ на данните.

Получените данни от проведените опити са представени в раздел **Експериментални резултати**, като са оформени в няколко подраздела: показани са резултатите за субстратната специфичност на изследвания ензим в черен дроб и бъбреци, изолирани от мъжки и женски полово незрели плъхове и за ефектите на тестостерон, на хидроксифлутамид (андроген-рецепторен антагонист), на дифлуорометилорнитин (селективен необратим инхибитор на орнитиндекарбоксилазата – ключов ензим от синтетичния път на полиамините), на

аминогуанидин (инхибитор на диаминооксидазата и на синтазите на азотен оксид) върху активността на диаминооксидазата от черен дроб и бъбреци на мъжки полово незрели плъхове. Участието на азотния оксид в регулацията на активността на ензима е изследвано чрез прилагане на блокери на гуанилатциклазата (мощният селективен инхибитор ODQ) и на синтазите на азотен оксид (L-NAME и L-NMMA). С цел изясняване механизмите на наблюдаваните ефекти, в отделните групи експерименти веществата са прилагани самостоятелно и в комбинации. Последната част от този раздел включва данните за влиянието на въглеродни наночастици върху активността на ензима в женски полово незрели плъхове. Резултатите са онагледени в 12 фигури и систематизирани в 4 таблици. **Дискусията** обхваща 18 страници и представлява задълбочен анализ на получените резултати, подкрепен от изнесени в литературата данни по изследваната тематика.

Получените резултати са обобщени в 10 **извода** и 5 **приноса**, които са формулирани кратко и ясно. Един от изводите има потвърдителен характер относно активизиращото действие на тестостерона върху диаминооксидазата от бъбреци на мъжки полово незрели плъхове. Останалите изводи представят оригинални резултати и постижения и поднасят нова информация относно механизмите на регулация на изследвания ензим. Приносен характер имат данните относно влиянието на тестостерон и синтазите на азотен оксид върху диаминооксидазната активност, убедително подкрепени чрез внимателно обмислен експериментален модел и задълбочен анализ на резултатите. Установена е и липсата на ефект на въглеродни наночастици върху активността на ензима, което предполага възможност за приложението им за диагностични и терапевтични цели. Следователно резултатите от тези изследвания притежават и практически потенциал.

4. Забележки и препоръки

Имах възможност да се запозная с дисертационния труд преди предварителната му защита. На разширения катедрен съвет представих становище с включени забележки и препоръки, с които докторантът се е съобразил и съответните корекции са отразени. Все пак поддържам мнението си, че поради изследваното влияние на много фактори върху активността на диаминооксидазата, е по-подходящо обединяването на резултатите с обсъждането им. Тази забележка е от технически характер и в никакъв случай не омаловажава научната стойност на дисертационния труд.

5. Публикации във връзка с дисертационния труд

Този труд е базиран на 3 научни статии – една публикувана в списание с импакт-фактор, една – в международно списание и една – под печат в сборника на СУ. М. Мишонова

е първи автор в две от тях. По темата на дисертацията докторантът има 1 участие в международен научен форум.

6. Придобита компетентност и съответствие с изискванията на образователната и научна степен „доктор”

При изпълнението на експерименталните задачи и оформянето на дисертационния труд докторантът е усвоил нови знания за физиологичните ефекти на полиамините и за механизмите на регулация на диаминооксидазата, ключов ензим в метаболизма им. Придобил е умения за подбор на адекватни подходи за разрешаване на конкретни изследователски задачи и за прилагане на специфични физиологични техники, включително и за работа с експериментални животни. Усвоил е умения за анализ, интерпретация и представяне на получените опитни данни. Придобитите компетенции и умения напълно покриват изискванията за придобиване на образователната и научна степен „доктор”.

7. Лични впечатления от докторанта

Като колеги в катедра Физиология на животните и човека, имам преки впечатления от работата на М. Мишонова по дисертационния труд. Тя показва самостоятелност при планирането и изпълнението на експерименталните задачи и оформянето на дисертацията, независимост и поемане на отговорност при разрешаване на научни проблеми, успешно съчетаване на научно-изследователската и преподавателската си дейност.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Въз основа на посочените аргументи относно актуалността на изследвания научен проблем, поставените специфични задачи, експерименталните подходи, получените резултати и реализирани научни приноси, оценявам положително настоящия дисертационен труд. По структура и съдържание той отговаря напълно на изискванията на Закона за развитие на академичния състав в Република България, на Правилника за неговото прилагане и на Правилника за условията и реда за придобиване на научни степени и заемане на академични длъжности в СУ „Св. Климент Охридски”. На базата на това препоръчвам на членовете на уважаемото Научно жури присъждането на образователната и научна степен „доктор” по професионално направление 4.3.Биологически науки (Физиология на животните и човека) на Милена Янкова Мишонова.

04.06.2018 г.

Рецензент:

/доц. д-р Мариела Чичова/