

СТАНОВИЩЕ

от проф. д-р Янислав Илиев Илиев, д-р

Лесотехнически университет гр. София, Факултет по ветеринарна медицина,

Катедра “Анатомия, хистология и физиология“

Относно: Дисертационен труд на тема “Регулация на чернодробната и бъбречна диаминооксидаза на плъх от тестостерон, аминокуанидин, синтази на азотен оксид и въглеродни наночастици“, с автор Милена Янкова Мишонова - докторант на самостоятелна подготовка, за присъждане на образователната и научна степен “Доктор“ в научното направление 4.3. Биологически науки, научната специалност “Физиология на животните и човека“

Дисертационният труд на ас. Милена Янкова Мишонова е посветен на актуален научен проблем, тясно свързан с изследване субстратната специфичност и регулацията на активността на диаминооксидазата (ДАО) в черен дроб и бъбреци на мъжки и женски полови незрели плъхове. Мониторингът на ДАО активността е от съществено значение за проследяване на биологичните им ефекти в значими за организма метаболитни пътища както при физиологични, така и патологични състояния - нефизиологична пролиферация на клетките, водеща до апоптоза или до неопластичен растеж или и за предпазване на организма от натрупване на путресцин и хистамин. Въглеродните наночастици притежават уникални физико-химични свойства, благодарение на което те намират все по-широко и обещаващо бъдещо приложение в сферата на биотехнологиите и медицината за решаване на множество биотехнологични и терапевтични задачи при насочена доставка на лекарства, за избирателно третиране на туморни клетки, както и в химията, физиката и екологията.

Представеният дисертационен труд и автореферат отразяват напълно и точно резултатите от проведените изследвания. Структурата на дисертацията отговаря на възприетите изисквания за тази категория научни трудове и е представена на издържан литературен и професионален език и стил. Текстът е написан на 128 страници и съдържа основните раздели, които по обем са в равномерно съотношение. Изследванията са онагледени с 27 фигури и 5 таблици, които са с много добро качество.

Уводът е представен под формата на кратка анотация, третираща актуалността и необходимостта от предприетите изследвания.

Литературният обзор е представен на 66 страници. Той е задълбочен, многостранен и богат на информация, отразяваща широката осведоменост на докторанта в различните аспекти на проблема и творческата интерпретация на литературните данни, което показва критичен подход към съществуващата информация и му придава аналитичен характер. В края на обзора е направено целенасочено обобщение за възможностите на въглеродни наночастици да бъдат използвани за медицински и биотехнологични цели, поради техния огромен научно-изследователски потенциал. В този си вид структурата на литературния обзор е в пълно съответствие с научния проблем.

Авторът е включил в литературния обзор 305 източници, от които 302 са на латиница и 3 на кирилица. От общият брой цитирани литературни източници 62,5% са от последните 10-12 години.

Целта на научното изследване е формулирана ясно и разбираемо и е в съответствие със заглавието на дисертационния труд – изследване на субстратната специфичност на ензима ДАО и да се проследи регулаторното влияние на тестостерон, на аминокуанидин, синтетазите на азотен оксид и на въглеродни наночастици върху неговата активност в черен дроб и бъбреци на мъжки полове незрели плъхове. За осъществяването на тази цел са поставени в логична последователност 8 конкретни задачи, чрез които се постига характеризирание на активността на ДАО при различни субстрати в черен дроб и бъбреци на мъжки полове незрели плъхове, както и нейната модулация от тестостерон, блокер на андрогенните рецептори, инхитор на орнитиндекарбоксилазата, аминокуанидин, инхитори на азотен оксид синтази, инхибитор на разтворимата гуанилатциклаза, някои от които в комбинации помежду си.

Собствените изследвания са проведени на високо методично ниво третирания *in vitro* на здрави мъжки и женски 35-40 дневни плъхове, инжектирани последователно интраперитониално с изследваните ефектори и декапитирани 4 часа по-късно. За определяне на субстратната специфичност на ДАО в мъжки и женски полове незрели плъхове са проведени експерименти в *in vitro* условия, като изследваните органи са незабавно изолирани и отделяни на лед за приготвяне на хомогенат, подложен след това на центрофугиране. Получената супернатанта е отделяна и използвана като източник на ензимна активност. Описанието на методиките е ясно и прецизно, като може да се обобщи, че с избраните методи са създадени необходимите условия за получаване на обективни научни данни.

Получените резултати ясно документират информацията от проведените изследвания и дават адекватен отговори с теоретичната и научно-приложна значимост.

Резултатите от проведени експерименти с изследваните ефектори са представени последователно и компетентно анализирани. В резултат на проведените изследвания са получени данни, не малка част от които представляват потенциален интерес и за клиничната медицина, т. е. имат не само научен, но и приложен характер. В потвърждение на казаното са получените оригинални резултати за наличие на тестостерон-зависима активация на ДАО, инициирана от взаимодействието му с андрогенни рецептори, както и липсата на значимо влияние на въглеродните наночастици върху активността на ключов ензим от катаболизма на полиамините – диаминооксидаза в основни хомеостатични органи, като черен дроб и бъбреци.

Обсъждането е проведено последователно и коректно, като собствените резултати са съпоставени с данните от изследванията на различни автори. Дискусията на получените резултати се интерпретира подходящо, въз основа на известните в литературата данни по разглеждания проблем. В тази връзка заслужават внимание резултатите с които се цели да бъде внесена повече яснота за механизма на регулация на ДАО от тестостерона. Може да се каже, че получените данни допринасят за обогатяване на познанията ни относно възможните пътища за въздействие върху активността на ДАО, като ензим от групата на Cu-съдържащите аминоксидази, които участват в разграждането на биогенни амини. Модулирането активността на ДАО разкрива нови възможности за превенция на организма от натрупване на путресцин и хистамин. Прецизното регулиране на свободното полиаминово съдържание е от съществено значение за нормалния растеж, развитие и физиология при бозайниците.

Висока оценка заслужават и получените резултати от проведените експерименти за изследване токсичността на въглеродните наночастици в два основни хомеостатични органа – черен дроб и бъбреци, чрез мониториране активността на ДАО в полово незрели женски плъхове. Получени са данни за тяхната по-добра биосъвместимост в сравнение с други наночастици, поради това, че са базирани на химичния елемент въглерод, който участва в структурите на всички живи организми.

Въз основа на получените резултати са направени 10 добре обосновани и с висока информативност **изводи**, които напълно съответстват на получените експериментални резултати и които приемам изцяло. Към дисертационния труд са изведени оригинални и потвърдителни приноси, които също приемам изцяло. Представените приноси с оригинален характер имат както фундаментално, така и научно-приложно значение за научната специалност Физиология на животните и човека.

Във връзка с темата на дисертационния труд са публикувани 4 научни труда, един от които е в списание с импакт фактор (ИФ), като в три от тях, включително това с ИФ Милена Мишонова е водещ автор.

Заключение: Представеният за рецензиране дисертационен труд на тема: “Регулация на чернодробната и бъбречна диаминооксидаза на плъх от тестостерон, аминогуанидин, синтази на азотен оксид и въглеродни наночастици“ от докторанта на самостоятелна подготовка Милена Янкова Мишонова, за присъждане на научната и образователна степен “Доктор“ по научната специалност “Физиология на животните и човека“ е самостоятелна, актуална и целенасочена научна разработка, която отговаря изцяло на критериите на ЗРАСРБ в Р България и правилниците за неговото приложение. В резултат на разработката са получени данни, които имат несъмнени приноси в проучването на физиологичните и биохимичните ефекти на катаболитния ензим ДАО, чрез проследяване на ензимната активност и субстратната специфичност в черния дроб и бъбреците на плъх, както и влиянието на тестостерон, хидроксифлутамид, дифлуорометилорнитин, аминогуанидин, синтази на азотен оксид и въглеродни наночастици върху активността на чернодробната и бъбречната диаминооксидаза.

Въз основа на всички тези посочени качества, предлагам на уважаемите членове на Научното жури да оценят по достойнство дисертационния труд и да присъдят на докторанта на свободна подготовка ас. Милена Янкова Мишонова образователната и научна степен “Доктор“ по направление 4.3. Биологически науки, научната специалност “Физиология на животните и човека“.

14.05.2018 год.

Изготвил становището:.....

Гр. София

(проф. д-р Я. Илиев, двм)