

С Т А Н О В И Щ Е

от проф. Мария Богомилова Ангелова, д.б.н., Институт по микробиология,
„Стефан Ангелов” при БАН

върху дисертационен труд, представен пред научно жури, сформирано със
заповед № Р0038-722/18.12.2019 на Ректора на Софийския университет „Св.
Климент Охридски”

за получаване за получаване на образователната и научна степен “доктор”

Автор: Драгомира Светлозарова Даскалова

Тема: Антимикробна активност на наноструктурни материали

Антимикробната резистентност (АМР) е една от ключовите думи на 21 век. Според СЗН, този феномен предизвиква все по-сериозни здравни проблеми. Предполага се, че до 2050 година АМР може да се превърне в по-често срещана причина за смърт, отколкото редица тежки заболявания. Усилията за преодоляването на проблема са насочени към търсенето на нови стратегии за въздействие върху патогенните микроорганизми. Наноматериалите и нанотехнологиите са една перспективна алтернатива, която може да предложи ефективна терапия на инфекциозните заболявания. Като се има пред вид, че действието на антибиотиците е насочено към възпрепятстване синтезата на клетъчната стена, а бактериите са развили способността си за мутации, търсенето на нови мишени е изключително предизвикателство. В този сценарий едно от основните предимства на наноматериалите за антибактериална активност е техният многоцелеви подход в сравнение с еднопосочния подход на антибиотиците. Именно това е научната насоченост в разработката на Драгомира Даскалова, което е указание за нейната актуалност и значимост. Дисертационната теза е мултидисциплинарна, фокусирана върху повишаване на знанията относно антимикробната активност на различни типове наноматериали и механизмите на тяхното действие. Новото тук е проучването на механизма на въздействие, което създава предпоставки за оригинални приноси.

Дисертационният труд е конструиран в традиционна форма със съответните раздели. Написан е на 178 стандартни компютърни страници, които включват 141 страници текст, 32 страници литература и 5 страници приложения. Литературният обзор е изготвен целенасочено и конкретно и отчита всички аспекти на изследването. В него са отразени 432 литературни източника, от които 429 на латиница, кореспондиращи с всяка една от поставените задачи. Обзорът представя състоянието на проблема в момента, като коректно отчита постигнатото до този момент при създаването и използването на наночастици, нанокomпозиции и поликомпонентни филми. Освен това, ясно е очертана актуалността на подобен род изследвания, посочена е възможността за използването им в различни области на науката и практиката.

Въз основа на анализа в литературния обзор е изведена целта на настоящата дисертация. Тя е ясна, добре формулирана и обединява всички направления на експерименталната работа. За реализиране на тази цел са формулирани 6 конкретни, взаимно обвързани и логически следващи задачи, които включват всички задължителни етапи на подобно проучване.

Разделът „Материали и методи” отговаря на мултидисциплинарния характер на разработката, използвани са рутинни и съвременни микробиологични, биохимични и молекулярно-генетични методи. Всички те са адекватни на изследванията и създават предпоставка за коректни резултати. Освен това, методите са представени разбираемо, без излишни подробности, но достатъчно пълно, за да бъдат възпроизведени. Тук искам да отбележа флуоресцентните и електронно-микроскопските изследвания, рентгеновата фотоелектронна спектроскопия, пламъчната атомно-абсорбционна спектрометрия, RT-qPCR, определяне на стрес-ефекта и др.

В раздел „Резултати и обсъждане” е отразен значителен експериментален материал относно структурата и антибактериалните свойства на използваните наноматериали. Работата започва логически с охарактеризиране на физико-химичните свойства на тънки филми, образувани чрез магнетронно ко-разпрашаване и постигането на хомогенност на структурата им. Основната част от изследванията са свързани с доказване на антимикробното действие на използваните наноматериали. Дискутиран е ефектът върху Грам-положителни и Грам-отрицателни бактерии, връзката между механизма на действие и строежа на клетъчната стена, значението на разпределението на наночастиците, както и това на техния афинитет към биомолекулите в бактериалната клетка. Подробно е проучено въздействието на колаген-базирани нанокompозити по отношение на състава, формата и размера, възможността за дифундиране в средата, електростатичните взаимодействия между композитите и бактериалните мембрани и проявата на синергизъм при поликомпонентен състав. Интерес представляват експериментите върху бактерии с тънки филми с презумпция за използване в медицината. Установен е ефектът на технологичните условия на синтез, компонентния състав и добавянето на Ag йони. Сериозен раздел от разработката е свързана с оценка на жизниспособността и морфологичните промени на бактериалните клетки след третиране с тънки филми. Проведените флуоресцентно- и електронно-микроскопски изследвания доказват ефективността на филми, съдържащи $\text{TiO}_2:\text{SiO}_2:\text{Ag}$. Прави впечатление разделът относно стрес-ефекта на медни и сребърни йони върху *E. coli*, както и изследванията върху експресията на избрани референтни и таргетни гени. Трябва да се отбележи доказаната стабилност на тънките филми при повторно използване и анализът на разтворимостта на тънкослойните покрития в динамика.

В този раздел, едновременно с коректното отразяване на получените данни, е представена и убедителна дискусия на базата на литературата от последните години, което е указание за доброто познаване на проблема и задълбочената научна разработка.

Докторантката представя 10 извода, които на пръв поглед са много, но като се има предвид големия обем на експерименталната работа, не считам, че това нарушава баланса в дисертационния труд. Според мен, те са логично следствие от получените данни и дават необходимата информация за стойността на проведените изследвания.

Приемам и формулировката на приносите и искам да подчертая по-важните от тях, а именно:

1. Получени са нови данни относно антимикробната активност на различни типове наноматериали и механизмите на тяхното действие.

2. Доказана е експресията на 12 двойки таргетни и референтни гени в *E. coli* като резултат от натоварване с медни и сребърни йони, отделени от наночастици.

3. Доказано е участието на Ag йони в наноматериалите при нарушаване защитните механизми на моделния щам *E. coli*.

4. За първи път е установен антимикробния ефект на нанокompозитни материали в колагенова матрица и тънки филми ($\text{TiO}_2:\text{Cu}:\text{Ag}$ и $\text{TiO}_2:\text{SiO}_2:\text{Ag}$), получени чрез магнетронно разпрашаване.

5. Създадени са стабилни и бързо действащи антимикробни наноматериали, перспективни за приложение в медицинската практика.

Данните от дисертацията са включени в 6 журнални научни статии и 1 публикувана в материали от международен форум. Докторантката е участвала с 6 доклада и 13 постера, свързани с тематиката на дисертацията в 17 научни форума (12 международни и 5 национални). В четири статии и в 8 доклада, Драгомира Даскалова е първи автор. Това ми дава основание да считам, че дисертацията основно е дело на докторантката. Освен това, Даскалова е участвала в научен колектив за разработването на 4 проекта, 2 от които са финансирани от СУ „Св. Кл. Охридски” и 2 – от ЕС по програма COST Action. Всички те са свързани с темата на дисертацията.

Към дисертацията имам следните бележки и коментари:

1. Формулираните задачи в раздел „Цел и задачи” не съответстват на подразделите в „Резултати и обсъждане”, което затруднява читателя да прецени постигането на поставената цел.

2. В т. 3.1. от раздел „Материали и методи” са представени всички използвани наноматериали, включително и тънките филми, т. е. те са получени готови за използване в експериментите. Но в т. 3.2. е описано изготвянето на тънките филми, което дава информация, че са част от разработката. Този раздел се нуждае от доуточняване.

3. В раздел „Резултати и обсъждане” е включена физико-химична характеристика само на тънките слоеве, не са представени резултати от другите наноматериали, използвани в дисертацията.

4. Работата би спечелила много, ако в края на дисертационния труд се включи раздел ”Обобщение”, който да представи в разширен вид изводите и да даде възможност на читателя да се ориентира в разработката и да възприеме постиженията в нея.

5. В оформянето на дисертационния труд и автореферата към него са допуснати някои редакционни грешки.

Посочените забележки не намаляват стойността на дисертацията. Отбелязвам ги с презумпцията да бъде полезна в бъдещата научна дейност на докторантката. Към нея имам следните въпроси:

1. Кой от използваните от Вас наноматериали е перспективен за приложение в медицинската практика като антиминобно средство?

2. Като се има пред вид постигнатото в настоящата разработка и нерешените въпроси по проблема, в каква насока трябва да бъдат насочени бъдещите изследвания?

В заключение искам да подчертая, че материалът, който представя Драгомира Даскалова е дисертабилен, темата е актуална и предлага ново, съвременно ниво на важен за теорията и практиката въпрос. В процеса на обучение докторантката е усвоила широк набор от модерни методи, а така също умението да интерпретира получените резултати, да търси и критично да оценява подобни изследвания в литературата и да формулира обяснения. Според мен, получените резултати са достоверни и са база за следващи научни и приложни разработки.

Въз основа на направения разбор и като имам предвид актуалността и нивото на работата, **убедено предлагам на уважаемите членове на Научното жури**, сформирано със заповед № Ро038-722/18.12.2019 на Ректора на Софийския университет „Св. Климент Охридски” да присъдят на Драгомира Светлозарова Даскалова образователната и научна степен “доктор” по професионално направление 4.3. Биологични науки (Микробиология).

26.02.2020 г

София

Изготвил становището:.....

/проф. Мария Ангелова, дбн/