



## СТАНОВИЩЕ

от доц. д-р Тамара Иванова Пайпанова, Институт по молекулярна биология „Акад. Румен Цанков“, Българска академия на науките,

**относно:** дисертационен труд за придобиване на образователната и научна степен „доктор”,

**Тема на дисертацията:** „Разработване на методи за оценка на нивото на оксидативен стрес и редокс-статуса на живи клетки, чрез използване на аминоксилни радикали”,

**Автор:** Екатерина Дончева Георгиева – редовен докторант в катедра „Медицинска химия и биохимия”, МФ-Тракийски университет, гр. Стара Загора

### Общо представяне на процедурата и докторанта

Представеният комплект включва подгответи материали и документи на електронен носител, отговарящи на изискванията от Процедурата за придобиване на ОНС „доктор”, съгласно Закона за развитие на академичния състав на РБ и Правилника за неговото приложение и вътрешни критерии на МФ-Тракийски университет, гр. Ст. Загора.

### Актуалност на темата

Представеният за рецензиране труд на Екатерина Георгиева се отнася до разработването на два нови метода за оценка на редокс-статуса на клетки, на основа на редокс-цикъла на аминоксилни (нитроксидни) производни и нитроксид-усилен магнитно-резонансен имиджинг (MRI) и EPR спектроскопия. Тези методи дават възможност за отдефиранциране на ракови клетки от нормални на базата на различния редокс-статус, както и за визуализиране и оценка на този параметър при индукция на оксидативен стрес в клетките.

**Темата е актуална и интересна**, като се има предвид практическата приложимост, както за диагностични цели, така и за прогнозиране ефективността на терапията при заболявания, съпроводени с нарушаване на редокс-сигнализацията, респ. редокс-статуса на клетките, тъканите и телесните течности.

### Анализ дисертационния труд

Дисертационният труд на Е. Георгиева обхваща 205 страници, включително 3 таблици, 67 фигури, 13 схеми и цитирана литература. Дисертацията е структурирана в рамките на общо приетите правила.

**Литературният обзор** на дисертацията (стр. 9-68) е оформлен прегледно, като са направени съществени корекции, с оглед на препоръките и забележките на рецензентите, и в настоящия вид отговаря напълно на целите и задачите на дисертацията, както и на методичната постановка:

1. Първият раздел – „Свободни радикали и реактивни кислородни видове. Оксидативен стрес, свободно-радикалови увреждания”, е съкратен значително.
2. Разработени са подробно раздел „Редокс-хомеостаза и клетъчен редокс-статус” и подраздел „Конвенционални методи за анализ на редокс-статуса на биологични обекти”, които имат пряко отношение към темата на дисертационния труд.
3. Добавена е информация за разликата в редокс-хомеостазата на ракови и неракови клетки, върху чиято база са формулирани целта и две от основните задачи на дисертацията.
4. Описани са принципите на двата основни метода – електрон-парамагнитния резонанс (EPR) и нитроксид-усиления MRI, използвани от докторантката.
5. Дискутиирани са предимствата и недостатъците на конвенционалните методи за анализ на редокс-статуса на биологични обекти, като са разгледани по-подробно два от тях, които докторантката е използвала в експерименталната част за валидизиране на резултатите от EPR и MRI методите.

**Целта и задачите** са написани ясно и конкретно, следвайки логически от литературния обзор.

**Разделът “Материали и методи”** (стр. 70-80) обхваща използваните от докторантката материали, както и методите, с които тя си служи за изпълнение на поставените експерименталните задачи. Методите са съвременни, а някои от тях и много авангардни, описани са достатъчно подробно и разбирамо, което позволява при необходимост да бъдат възпроизведени.

В раздел **“Експериментални резултати”** (стр. 81-161) Е.Г. подробно се спира на получените от нея данни при разработването на методики за директно визуализиране и анализиране на клетъчния редокс-статус, позволяващи разграничаване на ракови от неракови клетъчни линии, с използването на MRI и аминоксилни радикали като редокс-чувствителни контрастни агенти (нитроксид-усилен MRI) и EPR спектроскопия и аминоксилни радикали като редокс-сензори.

Последователността от експериментите е планирана логично. Всички получени резултати са много добре документирани.

В своята експериментална работа докторантката е използвала голям набор от нитроксиди, както в радикалова, така и в нерадикалова форма – един оригинален подход при дизайна на експериментите. Използвани са и голям набор от клетъчни линии – адхезивни и неадхезивни. Преведени са доказателства за

ролята на супероксидния радикал за възстановяване на контрастната радикалова форма на нитроксидите от неконтрастните форми – хидроксиламин и оксоамоний, респ. за възстановяване на нитроксид-усиления MRI и ЕПР сигнал. За тази цел Е.Г. е използвала чисти химични системи: калиев супероксид/вода; ксантин/ксантин-оксидаза; хипоксантин/ксантин-оксидаза.

Добавени са нови експериментални данни, получени със стандартни аналитични методи за оценка на оксидативния стрес и редокс-статуса в биологични обекти (с използване на DHE и DCF деривати като флуоресцентни сензори за супероксид и хидропероксиди). Направен е корелационен анализ на резултатите, получени с ЕПР метода и стандартните методи на клетъчни култури. Тук искам да подчертая, че Е.Г. е извършила голяма по обем експериментална работа за верифицирането на данните от ЕПР и MRI методите. Този раздел също е претърпял сериозни корекции. Прави впечатление, че на места при описание на резултатите, докторантката е вмъкнала и кратко обсъждане, с цел да обоснове подхода, подбран за всеки един следващ етап от изследванията.

Добавен е и липсващия в първия вариант на дисертацията раздел „**Дискусия**“ (с. 162-176). Дискусията съдържа интерпретация на получените от докторантката резултати, в сравнение с публикуваните в литературата данни, относно анализа на редокс-статуса на биологични обекти с ЕПР спектроскопия, MRI и конвенционални методи, които касаят сравнение между ракови и неракови клетки и тъкани. Изтъкнати са предимствата и недостатъците на ЕПР и MRI методите пред конвенционалните. Дискутирани са възможните механизми за динамиката на MRI сигнала на аминоксилните производни в присъствие на супероксид или водороден пероксид.

**С допълнителните изследвания и добавената дискусия, дисертацията на Е.Г. е добила завършен вид и може да бъде достойно оценена.**

В последните страници на дисертацията Е. Георгиева формулира **Изводи** (стр. 177-178) и **Приности** (стр. 179) и изрежда използваната от нея **Литература** (общо 570 цитата).

Екатерина Георгиева извежда 8 извода, които отразяват основните резултати от дисертационния труд и са описани достатъчно стегнато, предвид на огромния експериментален материал.

Като цяло приносите на дисертационния труд имат характера на научно-приложни.

Включените в дисертацията на Е.Г. резултати са **публикувани** в 5 научни съобщения. Две работи представляват кратки съобщения в пълен текст от участие в Международна конференция в Гърция, публикувани в *Anticancer Res.* и три са журнални статии – една обзорна статия в българско списание (*Trakia J. Sci.*) и две оригинални – в *ACS Chem. Neurosci.* и *Anticancer Res.* Четири от статиите са в списания с импакт-фактор. Екатерина Георгиева е първи автор в две от публикациите.

**Съответствие между автореферата и дисертацията:** Екатерина Дончева Георгиева е представила автореферат, написан съгласно изискванията. Последният адекватно и достатъчно пълно отразява структурата, съдържанието и изводите от дисертацията.

Всичко казаното до тук ми дава основание да подчертая, че **представеният труд отговаря напълно на изискванията, предявявани към една дисертация за придобиването на Образователната и научна степен „Доктор”**. Ето защо давам положителна оценка и предлагам на почитаемите членове на Научното жури да гласуват за присъждането на тази степен на **ЕКАТЕРИНА ДОНЧЕВА ГЕОРГЕВА**.

15.12.2016 г.

Доц. д-р Тамара Пайпанова