

СТАНОВИЩЕ

от проф. д-р Анна Найденова Толекова, дм – катедра „Физиология и патофизиология“, МФ-Тракийски университет, гр. Стара Загора

относно: дисертационен труд за придобиване на научната степен „доктор на науките“,

Тема на дисертацията: „Нитроксидните радикали като контрастни субстанции за диагностика на патологии, свързани с нарушения в проницаемостта на кръвоносните съдове и клетъчния редокс-статус“, *

Автор: доц. д-р Живко Желязков Желев – катедра „Медицинска химия и биохимия“, МФ-Тракийски университет, гр. Стара Загора

1. Актуалност на тематиката.

Дисертационният труд на доц. Живко Желев е свързан с доказване на възможностите за прилагане на нитроксидни радикали като контрастни субстанции за функционална магнитно-резонансна диагностика, в частност за магнитно-резонансна томография (МРТ) и ЕПР спектроскопия на патологии, придружени с развитие на оксидативен стрес и нарушения в проницаемостта на кръвоносните съдове и кръвно-мозъчната бариера. Акцентирано е върху връзката между физико-химичните свойства на серия от нитроксидни производни и тяхната приложимост за визуализиране и анализ на редокс-стейтуса на солидни тумори и изолирани ракови и неракови клетъчни линии, митохондриална дисфункция при паркинсонизъм, бъбречна дисфункция при хиперхолестеролемия. **Темата на дисертацията е много актуална**, за което свидетелстват множеството публикации в литературата в последните десетина години, свързани с разработването на нови контрастни субстанции за визуализиране и анализ на редокс-активни форми в клетки и тъкани ин витро и ин виво. **Темата е с висок импакт не само за експерименталната образна диагностика, но и за медицинската практика**, като се има предвид необходимостта от нови контрастни субстанции за МРТ с висока релаксивност и по-ниска токсичност от конвенционалните, чието приложение не винаги е безопасно за пациента.

2. Структура на дисертационния труд

Общийят обем на дисертационния труд е 265 стр., които включват 14 таблици, 103 фигури и 528 цитата. Дисертацията е структурирана в обичайния формат: 1. Введение. 2. Обзор на литературата. 3. Цели и задачи. 4. Материал и методи. 5. Експериментални резултати и дискусия. 6. Изводи. 7. Приноси. 8. Литература. Най-голям по обем е раздел „Експериментални резултати и дискусия“ (над 1/2 от общия обем).

Обзорът на литературата е написан много стегнато и последователно, като са засегнати всички аспекти, дискутирани в експерименталната част на дисертацията. Доц. Желев е показал отлично познаване тематиката и аналитично представяне на литературните данни. Изложението е много ясно и позволява на читателя да навлезе с лекота в проблематиката. Обзорът завършва със заключение, което систематизира неясните и дискусационни въпроси по темата и е естествена база за формулиране на целите и задачите на дисертационния труд.

Методите са описани на 20 страници, много подробно, с детайли, които позволяват да бъдат възпроизведени. Наборът от методи е изключително голям, като большинството от методите са много съвременни, а някои и авангардни и дори екзотични за българските условия на работа в науката (като експерименталната магнитно-резонансна томография).

Експерименталните резултати са описани в 7 раздела: 1. Връзка между физикохимичните свойства на нитроксидните радикали и използването им като спин-маркери за визуализиране на проникването на лекарствени средства през клетъчната мембрана и кръвно-мозъчната бариера, чрез ЕПР спектроскопия *in vitro* и МРТ *in vivo*. 2. Нитроксидните радикали като контрастни субстанции за визуализиране и анализ на промени в проницаемостта на кръвоносните съдове и кръвно-мозъчната бариера *in vivo*, с използване на МРТ при експериментален модел на хиперхолестеролемия. 3. Нитроксидните радикали като контрастни субстанции за визуализиране на бъбречна дисфункция *in vivo*, с използване на МРТ при експериментален модел на хиперхолестеролемия. 4. Нитроксидните радикали като контрастни субстанции за визуализиране и анализ на тъканния редокс-статус *in vivo*, с използване на МРТ при експериментални модели на тумори. 5. Нитроксидните радикали като контрастни субстанции за визуализиране на митохондриална дисфункция и свръхпродукция на супероксид *in vivo* в допаминергичната област на мозъка при мишки с паркинсонизъм. 6. Нитроксидните радикали като контрастни субстанции за визуализиране и анализ на клетъчния редокс-статус и индукцията на оксидативен стрес в изолирани клетъчни линии *in vitro*, с използване на МРТ. 7. Нитроксидните радикали като контрастни субстанции за визуализиране и анализ на клетъчния редокс-статус и индукцията на оксидативен стрес в изолирани клетъчни линии *in vitro*, с използване на ЕПР спектроскопия.

3. Оценка на получените научни и научно-приложни резултати

Експериментите са извършени на моделни (химични) системи, голям брой клетъчни линии и експериментални животни, като е използван голям набор от модели на патология, придружени с индукция на оксидативен стрес, промени в редокс-статуса на клетките и тъканите и промени в проницаемостта на кръвоносните съдове. Бих искала да акцентирам на експерименталните резултати, получени на миши модели на тумори и МРТР модела на болестта на Паркинсон, които представляват особен интерес за медицината:

1. Показано е, че хидрофобният нитроксид SLENU и амфи菲尔ният TEMPOL са подходящи контрастни субстанции (редокс-сензори) за визуализиране на тумори чрез МРТ *in vivo*, на базата на различния редокс-статус на туморната и нормалните тъкани. Динамиката на нитроксид-усиления МРТ сигнал на SLENU и TEMPOL в тъканите на здрави животни и животни-туморносители илюстрира две важни тенденции: (а) тъканите на животните-туморносители (като туморната, така и „нормалните“) се характеризират с повишен оксидативен капацитет, докато тъканите на здравите животни се характеризират с висок редуциращ капацитет; (б) тъканият редокс-статус се променя в хода на прогресивното развитие на тумора и може да бъде разглеждан като маркер за туморогенеза. Тези изводи са потвърдени чрез нитроксид-усилената МРТ *in vivo* с използване на диамагнитния TEMPOL-H, както и чрез ЕПР спектроскопия на изолирани тъканни препарати *ex vivo* след инкубация с калиев хексацианоферат.
2. Показано е, че Mito-TEMPO е подходящ редокс-сензор за МРТ диагностика *in vivo* на митохондриална дисфункция, съпроводена със свръхпродукция на супероксид и индукция на оксидативен стрес в допаминергичната област на мозъка на мишки с паркинсонизъм. Резултатите от нитроксид-усилената МРТ показват понижен редуциращ и висок оксидативен капацитет на мозъчните тъкани при мишките с паркинсонизъм, което е потвърдено и чрез два конвенционални аналитични теста на изолирани тъканни препарати.

4. Изводи и приноси: Резултатите са обобщени в 9 извода и 8 оригинални приноса, като по-голямата част от приносите са с приложен характер за диагностични цели. По мое мнение биха могли да се формулират и доста приноси с оригинален и потвърдителен характер. Изводите и приносите са формулирани достатъчно ясно и отговарят напълно на получените резултати.

5. Наукометрични показатели: По дисертацията са публикувани 25 статии – 18 в списания с импакт-фактор и 7 в български списания (част от които се реферират в Scopus), като в 14 статии доц. Желев е първи автор. Общият импакт-фактор на публикациите е 63.28. Всички статии по дисертацията са публикувани в периода 2009-2016, като за това кратко време са забелязани 133 цитирания. По публикациите има представени и 15 отзива в средствата за масова информация – Royal Chemical Society (UK), Nature Publishing Group (Asia Materials) и японски медии. По темата на дисертацията доц. Желев е представил 13 доклада на научни форуми. Бил е и ръководител на три научни – два от които са финансираны от японски институции, и един – от ФНИ на Тракийския университет.

Заслужава да се отбележи, че дисертацията на доц. Желев за присъждане на научната степен „доктор на науките“ е различна като тематика, методология и резултати от дисертацията му за присъждане на образователната и научна степен „доктор“.

Заключение: Представеният труд като обем, съдържание и приноси изцяло отговаря на критериите за дисертация за присъждане на научната степен “доктор на науките”. Наукометричните показатели надхвърлят многократно изискуемите. Приносите са оригинални, като преобладаващата част от тях имат и приложен характер в областта на диагностичната медицина. Горецитиранны факти ми дават основание да изразя своя положителен вот и да препоръчам на уважаемите членове на Журито да бъде присъдена на доцент Живко Желев научната степен “Доктор на науките” в научното направление 4.2. Химически науки (Биоорганична химия, химия на природните и физиологично активните вещества).

Проф. д-р Анна Найденова Толекова

15.06.2017

