



СТАНОВИЩЕ

от доц. Живко Желязков Желев, дх, Тракийски университет – Медицински факултет

Относно: дисертационен труд за придобиване на образователната и научна степен

„доктор” (научно направление 4.1. Химически науки)

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

Докторант: Екатерина Дончева Георгиева

Екатерина Дончева Георгиева завършва Химическия факултет на Софийския университет „Св. Климент Охридски” през 2011 г., придобивайки последователно бакалавърска степен по „Приложна органична и неорганична химия” и магистърска степен по „Съвременни методи за анализ и синтез на органични съединения”. От началото на 2012 г. е зачислена като редовен докторант по „химия” в катедра „Медицинска химия и биохимия” на Медицинския факултет към Тракийския университет.

Като научен ръководител на докторантката бих искал да отбележа, че Екатерина Георгиева навлезе сравнително бързо в тематиката на дисертационния труд и експерименталната работа. Имаше достатъчна теоретична основа в областта на ЕПР спектроскопията и начални практически умения, за да се справи с предварителните контролни експерименти върху моделни системи. Тези експерименти бяха от изключителна важност за прецизиране на работната й програма, предвид на иновативността на разработката и липсата на методични данни в литературата по темата на дисертацията. В последната една година тя положи доста усилия за доработване на дисертацията, както и по коригирането на литературния обзор, описание на експерименталната част и дискусията, с оглед на отправените й забележки и препоръки от страна на рецензентите през миналата година. Значителен прогрес има и при усвояването на специализираната литература, като новият вариант на Обзора и добавената Доскусия са индикация за това. В рамките на една година успя да отстрани почти всички недостатъци и да представи един наистина завършен и достоен дисертационен труд – на световно, а не само на регионално ниво.

Дисертационният труд на Екатерина Георгиева е посветен на разработване на нови методи за оценка на клетъчния редокс-статус (на живи клетки, а не на клетъчни лизати, тъканни хомогенати и пр.) на базата на редокс-цикъла на аминоксилни (нитроксилни) производни и с използване на ЕПР спектроскопия и магнитно-резонансен имиджинг (MRI). Двата метода се основават на промяната на контрастните свойства на нитроксилни производни при преминаването им от радикалова в нерадикалова форма и обратно, което се регистрира с нитроксид-усилен MRI и EPR спектроскопия. Резултатите са валидизирани с конвенционални тестове за анализ на редокс-статуса на клетки, с използване на флуоресцентни сонди.

Разработването на дисертацията в срок и получените иновативни резултати се дължат не само на работоспособността на докторантката, но и на нейния ентузиазъм и находчивост. През 2013-та година Екатерина Георгиева спечели индивидуален проект по Оперативна

програма „Развитие на човешките ресурси“ BG051PO001-3.3.05-0001 (схема “Наука и бизнес“) за специализация в Япония. Това позволи да разширим работната й програма и да включим магнитно-резонансния имиджинг като нов метод за оценка на клетъчния редокс-статус. Тази част от експерименталната работа беше осъществена изцяло на базата на Националния институт за радиологични изследвания на Япония.

В становището си ще спомена само най-важните и оригинални експериментални резултати, описани в дисертацията:

1. Използван е широк набор нитроксили, които се различават по степен на проникване през клетъчната мембрана и локализиране във вътреклетъчните органели при живи клетки. Нитроксилите са приложени в две форми – радикалова (парамагнитна; контрастна) и нерадикалова (диамагнитна; неконтрастна), като в първия случай се анализира намаляването на MRI/EPR сигнала (в резултат на редукцията на нитроксидния радикал), а при втория случай се анализира появата на нитроксид-усилен MRI/EPR сигнал (в резултат на взаимодействието на нерадикаловата форма със супероксидните радикали и възстановяване на контрастната радикалова форма на нитроксида). Резултатите от двата подхода показват висока степен на корелация.
2. Разработени са два оригинални метода: (а) за визуализиране и идентифициране на ракови от неракови клетки на базата на различния им редокс-статус; (б) за оценка на клетъчния редокс-статус при индукция на оксидативен стрес в клетките, като за модел е използвана системата „2-метокси-естрадиол/ротенон“ (2-ME/Rot). За първи път е визуализирана митохондриална дисфункция чрез MRI на живи клетки. Методите могат да бъдат прилагани не само на изолирани клетъчни суспензии, но също на тъканни хомогенати и телесни течности. Описаните експериментални резултати са с подчертано приложен характер – за предклинична лабораторна диагностика на заболявания, свързани с нарушения в редокс-сигнализацията, resp. редокс-статуса на клетки, тъкани и телесни течности (туморогенеза, невродегенеративни увреждания, автоимунни заболявания, възпалителни процеси и др.).
3. EPR методът е приложен върху голям набор от култивирани клетъчни линии (6 ракови и 3 неракови). Това липсва при MRI метода, най-вече поради ограниченото време за използване на скъпоструващата апаратура.
4. Резултатите от EPR спектроскопията на клетъчни култури са валидизирани чрез два конвенционални аналитични метода. Тези два метода дават също възможност да се оцени ролята на супероксида и водородния пероксид в динамиката на MRI/EPR на нитроксилите, както и ролята им като „про-онкогенни“ и „анти-онкогенни“ фактори.
5. Използван е широк набор от чисти химични системи за доказване на молекулната природа на нитроксид-усиления MRI/EPR сигнал в клетъните суспензии. Доказана е по неоспорим начин ролята на супероксидния радикал за възстановяване на контрастната форма на нитроксилите от неконтрастните форми, resp. за възстановяване на нитроксид-усиления MRI/EPR сигнал при култивирани ракови

клетки (в сравнение с нераковите) и клетки, подложени на оксидативен стрес.

Добавен е липсващият раздел „Дискусия“. Преставен е сравнителен анализ на получените от докторантката резултати и описаните в литературата – с техните предимства и недостатъци.

Коригираният вариант на дисертацията на Екатерина Георгиева е в обем на 206 страници, написана е в стандартен формат и е онагледена с 67 фигури, 3 таблици и 13 схеми. Цитирани са над 500 литературни източника. Обемът на дисертацията е доста над общоприетия за присъждане на образователната и научна степен „доктор“, но предвид голямото количество експериментални резултати, съкрашаването му би затруднило значително тяхното описание и интерпретация. Сам по себе си всеки един от разработените методи би могъл да бъде предмет на отделна дисертация.

Във връзка с дисертацията са публикувани 5 статии в списания с импакт фактор (три оригинални статии в Anticancer Research, една оригинална статия в ACS Chemical Neuroscience), една обзорна статия в Trakia J. Sci., като Екатерина Георгиева е първи автор в две от статиите и втори автор – в две от тях. Общийт импакт-фактор на публикациите по дисертацията е 10.033 (по JCR`2015). Резултатите са представени на два научни форума – един международен и един регионален.

Заключение:

В настоящия формат дисертационният труд на Екатерина Дончева Георгиева отговаря напълно по качество и обем на изискванията на ЗРАСРБ и Правилника на Тракийския университет за присъждане на образователната и научна степен „доктор“. Получените експериментални резултати са иновативни и с висока степен на оригиналност и проложимост.

Познавайки отблизо теоретичните познания и експерименталните умения на докторантката, бих искал да подчертая, че тя е един изграден млад изследовател. Отново бих й препоръчал да бъде последователна и съсредоточена в научно-изследователската работа, по-прецизна и по-настоятелна в представянето и публикуването на получените резултати, което би й гарантирало успешно академично израстване в бъдеще.

Предвид изложеното по-горе, препоръчвам без резерви на Научното жури да присъди образователната и научна степен „доктор“ (научно направление 4.1. Химически науки) на Екатерина Дончева Георгиева.

15.12.2016 г.


(Доц. Живко Желев, дх)