

РЕЦЕНЗИЯ

ОТНОСНО: Дисертационен труд за защита и придобиване на образователната и научна степен „Доктор”, по професионално направление „Биологични науки”, шифър 4.3 (стар шифър – 01.06.08 – „Биофизика”), представен пред Научно жури, определено със заповед № 267/17.07.2013 г. на Директора на ИБФБМИ – БАН

Тема на дисертационния труд:

„Термодинамичен профил на плазмения протеом при злокачествени заболявания”

Автор на дисертационния труд:

инж. Светла Желязкова Тодинова, докторант на самостоятелна подготовка в секция ”Биомакромолекули и биомолекулни взаимодействия” при Институт по биофизика и биомедицинско инженерство (ИБФБМИ) – БАН

Научен ръководител: проф. Стефка Германова Танева, д.б.н.

Рецензент: доц. д-р Красимира Идакиева, ИОХЦФ – БАН

Кратки биографични данни

Инж. Светла Тодинова е родена през 1958 г. в гр. София. Дипломира се в Технически университет – София през 1982 г. като магистър – инженер по радиоелектроника. След дипломирането си започва работа в Институт по електроника – БАН, от 1988 г. е главен асистент в ИБФБМИ – БАН, като през 2012 г. е зачислена като докторант на самостоятелна подготовка в секция ”Биомакромолекули и биомолекулни

взаимодействия”. Докторантката е изпълнила успешно предвидената образователна и научна програма. Тя е представила всички необходими по процедурата документи в съответствие с Правилника за развитие на академичния състав на ИБФБМИ.

Актуалност и значимост на дисертационния труд

Темата на дисертационния труд е свързана с актуален проблем на човешката патология – злокачествените заболявания, при които ранната диагностика в повечето случаи е решаваща за изхода на заболяването.

През 2007 г. Garbett и съавт., първи разкриват възможността за приложение на метода диференциална сканираща калориметрия (ДСК) в медицината. Изследвайки температурното поведение на кръвна плазма те установяват, че типичната ДСК термограма за здрави индивиди драстично се различава от тази за пациенти с ревматоиден артрит, мозъчни тумори, Лаймска болест, рак на яйчниците, меланом и др. През 2010 г. Michnic и съавт., съобщават за съществени разлики между термограмите на кръвен серум от здрави индивиди и от пациенти с хронична обструктивна белодробна болест. Утвърждаването на ДСК в диагностиката и мониторинга на болести несъмнено изисква нови и задълбочени проучвания върху различни заболявания.

Представените в дисертационния труд резултати допринасят за разкриване на потенциала на термодинамичния подход за диагностика на злокачествени заболявания. Предприето е мащабно изследване с помощта на ДСК на голям брой пациенти, диагностицирани с множествен миелом и с карцином на епителните тъкани. Както докторантката подчертава, тази техника предоставя начин за бързо проследяване на измененията на термодинамичното поведение на кръвната плазма или серум, свързани или с промяна на концентрацията на съдържащите се в плазмата белтъци, или с

отместването на техните характерни температурно-индуцирани конформационни преходи в резултат на взаимодействието им с лиганди (тумор-специфични маркери). В тази връзка смятам, че темата на дисертационния труд е актуална и перспективна както от научна гледна точка, така и поради възможността за приложение на резултатите в медицината.

Актуалността на темата, разработвана в дисертацията, проличава и от факта, че 69 % от литературните източници, свързани с изследванията в рецензирания труд са от последните десет години. Публикациите на Светла Тодинова започват да се цитират непосредствено след тяхното отпечатване и вече има забелязани 5 цитата, което свидетелства за интереса в научната общност и значимостта на получените резултати.

Структура на дисертационния труд

Представеният ми за рецензиране дисертационен труд е написан на 131 стандартни страници, съдържа 29 фигури, от които 14 са включени в литературния обзор и коректно цитирани. Дисертационният труд е добре структуриран със съответни раздели: Увод – 2 стр.; Цел и задачи – 2 стр.; Литературен обзор – 31 стр.; Методи и обекти на изследване – 8 стр.; Експериментални резултати и дискусия – 39 стр.; Обобщение – 3 стр.; Изводи – 1 стр.; Справка за научните приноси – 2 стр.; Литература – 12 стр. Много добро впечатление прави обособяването на отделен раздел „Обобщение”. Експерименталните резултати и дискусия са представени на 15 фигури, някои от които съставни, и 12 таблици. Цитираната литература обхваща 138 източника на латиница и 2 на кирилица. Литературните източници са подредени по азбучен ред и коректно цитирани.

Разделът **Литературен обзор** е написан на добър научен език. В отделните му подраздели последователно са представени и анализирани

литературните данни свързани с проблемите, на които е посветен дисертационния труд. Представени са данни за кръвния протеом, разгледани са плазмените белтъци като албумин, имуноглобулини, трансферин и др., които търпят структурни промени при заболявания и представляват потенциални „биомаркери” за тяхната диагностика. Направен е кратък преглед на литературата отнасяща се до злокачественото заболяване на кръвта - множествен миелом (ММ), което е свързано със секретирание на моноклонални имуноглобулини (М протеин) или на белтъка на Бен Джоунс. Диагностицирането на това заболяване е комплексно и съвременната протеомна техника би могла да даде потенциална терапевтична стратегия. Изтъкната е трудността при диагностицирането на случаите на ММ, при които миеломните клетки не произвеждат моноклонален белтък – несекреторния миелом. Описани са епителните карциноми – колоректален карцином и карцином на стомаха, чието откриване в ранен етап има най-голямо значение за изхода от заболяването. В следващ подраздел на литературния обзор е представен детайлно метода ДСК и възможностите за неговото приложение при изучаване на белтъци, както и за изследване на взаимодействията белтък-лиганд. Направена е логичната връзка, че ДСК като метод силно чувствителен към концентрацията, конформацията и взаимодействието на белтъците с други молекули, би позволил да се наблюдават незначителни промени в плазмения протеом, свързани с патологични процеси. Оттук докторантката обоснова формулира основната цел на дисертационния труд, а именно: *установяване на нови калориметрични маркери за злокачествени заболявания, хематологични и онкологични, и оценка на потенциала на термодинамичния подход за диагностика на тези заболявания.* За постигане на тази основна цел са набелязани и проведени четири конкретни задачи.

Оценка на методите на изследване

Дисертационният труд е изпълнен на съвременно методично ниво. Температурната денатурация на кръвен серум и плазма от значителен брой пациенти (458) е проследена с помощта на високочувствителни микрокалориметрични системи на базата на блокове на Привалов ДАСМ-1 и ДАСМ-4. Получените термограми са анализирани и са определени термодинамични параметри. Направен е статистически анализ на термограмите.

За определяне нивата на основните серумни белтъци албумин и имуноглобулини е приложена прецизна капилярна електрофореза.

Оценка на получените резултати

Разделът „Експериментални резултати и дискусия” е разпределен в отделни подраздели следващи логично и последователно поставените за решаване в дисертацията задачи.

Получени са типични ДСК профили на кръвна плазма и серум от здрави индивиди, които да служат като контроли при сравнение. Определени са термодинамичните параметри на наблюдаваните преходи в термограмите.

Прилагайки термодинамичния подход е проведено изследване на серумен/плазмен протеом на пациенти с онкозаболявания. Установени са специфични промени на термодинамичните параметри, които могат да служат като калориметрични биомаркери при изследваните заболявания. Показано е, че с помощта ДСК метода могат да бъдат разграничени злокачествени заболявания с различен произход и локализация.

Важен резултат също е, че с помощта на ДСК са регистрирани драстични промени в кръвен серум от пациенти с несекреторен миелом, за който липсват надеждни биомаркери.

Поставената цел и задачи на дисертационния труд са изпълнени напълно успешно. Докторантката е извършила изключително голяма по обем експериментална и изчислителна работа. Фигурите и таблиците са изготвени прецизно и добре онагледяват получените резултати. Дискусията е задълбочена и е отчетена възможността за практическо приложение на резултатите от проведеното изследване. Дисертационният труд и автореферата са оформени изключително грижливо.

Оценка на приносите в дисертационния труд

Считам, че получените резултати и приноси са на високо научно ниво и новост в медицинската практика:

1. За първи път е проведено детайлно изследване с помощта на ДСК на кръвна плазма и серум от пациенти, диагностицирани с онкологични и хематологични заболявания, при което са установени значителни различия в калориметричните профили на тези пациенти от характерните за здрави индивиди. Въз основа на това изследване е представена ДСК - базирана класификация за изследваните злокачествени заболявания.

2. Въз основа на установените разлики от статистически голям брой ДСК профили на кръвен протеом от пациенти с колоректален карцином, карцином на стомаха и множествен миелом, са получени групи от референтни термограми за изследваните заболявания, които в бъдеще могат да намерят приложение за тестване на ново-диагностицирани случаи и скрининг-диагностика.

3. Получените в дисертационния труд резултати допринасят за валидирането на ДСК като подходящ, неинвазивен метод за диагностика и проследяване на злокачествени заболявания.

Критични бележки, препоръки и въпроси

Нямам критични бележки и препоръки към дисертационния труд по същество. Имам следните въпроси:

1. Как докторантката вижда възможностите за реализация на калориметричния подход в медицинската практика?

2. Планира ли изследвания върху кръвна плазма и серум при пациенти с други заболявания, което би потвърдило и разширило възможностите на метода?

Оценка на съответствието между автореферата и дисертационния труд

Съдържанието на автореферата напълно съответства на съдържанието на дисертационния труд, като в резюмиран вид отразява методите и обектите на изследването, целта и задачите, получените резултати, направените изводи и справка за научните приноси.

Публикации във връзка с дисертационния труд

Към дисертационния труд са представени 2 публикации по темата на дисертацията и една е напълно завършена и подготвена за печат. Обективен критерий за високото качество на резултатите от проведените в дисертационния труд изследвания са публикациите в престижните

списания с висок импакт фактор: *Analytical Chemistry* – IF 5.695 и *Biochimica et Biophysica Acta* – IF 3.733.

Докторантката е представила резултатите от дисертационния труд на 5 участия в научни форуми, две от които в международни форуми.

Личният принос на Светла Тодинова в разработването на дисертационния труд е несъмнен. В приложените научни трудове, както и в подготовения за печат, Светла Тодинова е първи автор.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Дисертационният труд на Светла Тодинова представлява задълбочено и аргументирано научно изследване, третира актуален проблем на науката, съдържа значими научни резултати и реални приноси за медицинската практика, и заслужава висока оценка. Написан е ясно и стегнато, на много добър научен и литературен език. Изработването и оформянето на дисертационния труд, включващо представянето на резултатите, тяхното дискутиране и илюстративния материал ми дават основание да смятам, че в процеса на докторантурата Светла Тодинова е придобила теоретични и практически умения, напълно съответстващи на изискванията за образователната и научна степен „Доктор”.

Във основа на изложеното дотук убедено препоръчвам на членовете на уважаемото Научно жури да присъди на докторант Светла Желязкова Тодинова образователната и научна степен „Доктор”.

Рецензент:

Доц. д-р Красимира Идакиева

4 септември 2013 г.

гр.София