

РЕЦЕНЗИЯ

на дисертационен труд
за получаване на образователната и научна степен "Доктор"

Автор на дисертацията: Северина Йорданова Семкова

Тема: " Комбиниран подход за *in vitro* и *in vivo* визуализиране на проникването и локализирането на флуоресцентни наночастици в тумори след електропорация"

Рецензент: академик Борис Тенчов

В дисертационната работа на Северина Семкова са изследвани два вида полимерни наночастици с цел установяване на приложимостта им за визуализиране на тумори и за евентуални бъдещи приложения като преносители на лекарствени средства. Както е известно, нанотехнологичните подходи намират в последните години все повече приложения в областта на медицината и фармацията. Основни направления на работа са разработването на нови видове наноносители с подобрени качества за пренос и доставка на лекарства до болни тъкани и органи в организма, също така и на наносистеми за диагностика на различни заболявания. Свидетелство за големия интерес към такива разработки е лавинообразното увеличение на броя на публикациите в тази област от няколко години насам. Особено популярен напоследък става т.н. тераностичен подход, в рамките на който се разработват наносистеми с комбинирани свойства, които могат да се използват едновременно както за диагностика, така и за терапия на дадено заболяване. С оглед на казаното дотук може да се счита, че изследванията в дисертационната работа на Семкова са актуални и съответстват напълно на съвременните тенденции в тази област. Както е посочено в главата "Цели и основни задачи", целта на дисертацията е (цитирам) "да се разработи комбиниран подход за оценка на тераностичния потенциал на мономодални и мултимодални наночастици и възможностите им за визуализиране на проникването, локализацията и фармакокинетиката *in vitro* и *in vivo* – пасивно или след електропориране". Тук трябва да се отбележи, че разработването на комбиниран подход за оценка на тераностичния потенциал на наночастиците е все още в пожелателно

наклонение – в дисертацията не се откриват изследвания върху включване на лекарствени препарати в наночастиците. Не е изключено използваните системи да дадат възможности за такива изследвания в бъдеще, но в настоящата дисертация за комбиниран тераностичен подход не става дума. В нея са изследвани степента на задържане на различни маркери в наночастиците, както и възможностите за визуализация на проникването, локализацията и фармакокинетиката на наночастиците *in vitro* и *in vivo*, т.е., тази работа е посветена на изследвания върху диагностичния потенциал на използваните наночастици.

Дисертацията е написана на 112 стр., съдържа 40 фигури и 2 таблици и е оформена по стандартен начин. Съдържа увод, цел и задачи, литературен обзор, материали и методи, експериментални резултати и обсъждане, библиография с 214 заглавия, изводи, справка за приносите и списък на собствените публикации, както и на други научни активи на Северина Семкова. В литературния обзор, заемащ около 35 страници, са разгледани принципите и теоретичните основи на електропорацията, изброени са съвременните методи за визуализиране на наночастици и са разгледани по-подробно възможностите за визуализация посредством спектрофлуоресценция и магнитно-резонансна томография, както и характеристиките на квантовите точки и предимствата им като флуорофори. Последният раздел на обзора е посветен на особено важния въпрос за тераностичния подход в съвременните медицински нанотехнологии. Обзорът е добре написан, изложението е прозрачно и напълно ясно. Правят добро впечатление задълбоченото познаване на литературата и способността на авторката на дисертацията да излага сбито, но същевременно разбираемо и достатъчно подробно необходимите за дисертацията сведения от публикуваните в литературата работи в областите на електропорацията и нанотехнологиите.

В главата "Материали и методи" са описани използваните в дисертацията експериментални методи. Те включват методи, основани на динамично светоразсейване, атомно силова микроскопия и ултрафилтрация, за определяне на размерите и формата на наночастиците, ултрафилтрация за измерване на способността на наночастиците да задържат включените в тях маркери, методи за култивиране на ракови клетки и за индуциране на тумори в опитни животни, апаратура за електропорация, разработена в ИБФБМИ на БАН. За визуализация и охарактеризиране на интернализацията на наночастиците *in vitro* и *in vivo* са приложени флуоресцентна конфокална микроскопия

(ИБИР БАН) и магнитно-резонансна томография (в Япония). Всички методи са достатъчно подробно описани и авторката на дисертацията очевидно е добре запозната с тях. Ще отбележа и един пропуск – липсва описание на начина на получаване, композицията и свойствата на втория вид използвани в дисертацията наночастици, съдържащи, може би, химично модифициран хитозан. Като цяло, тази глава от дисертацията показва, че е използван богат набор от методи, който е адекватен на поставените в дисертацията задачи и е дал възможност тези задачи да бъдат успешно решавани.

Получените в дисертационната работа нови резултати са представени в главата "Експериментални резултати и обсъждане". Тези резултати се отнасят към категорията получаване на нови факти относно известен от литературата проблем. Най-важните от тях могат да се формулират накратко по следния начин. Установено е, че квантовите точки (QD) се задържат изцяло в полимерните наночастици, докато изследваните органични флуорофори постепенно изтичат от тях. Това прави квантовите точки по-подходяща контрастна субстанция за визуализиране на проникването и локализирането на нанозомите в биологични обекти. Изследваните наночастици имат ниска цитотоксичност в условия *in vitro*. Установено е, че прилагането на електрически импулси води до значително увеличение на скоростта и степента на проникване на наночастиците в клетките. Приемам изводите така, както са формулирани в дисертацията, също и приносите с направената по-горе уговорка, отнасяща се към принос 1, че е преждевременно да се твърди, че изследваните наночастици са подходящи за тераностика, най-малкото поради обстоятелството, че тераностични изследвания в дисертацията не са провеждани. Маркирането на едни и същи частици с 2 маркера – QD и Mn – не е достатъчно доказателство. По принцип, всички видове наночастици могат да включат повече от едно вещество, но това още не доказва тераностичния им потенциал. От професионалното описание на резултатите и от задълбочената дискусия върху тях оставам с впечатлението, че С. Семкова има значителен личен принос в получаването на изложените в дисертацията резултати.

Като цяло, дисертацията е добре написана и оформена. Езикът е ясен и разбираем, допуснати са много малко технически и печатни грешки, фигурите са добре направени и илюстрират ясно получените резултати. Авторефератът коректно отразява съдържанието и приносите в дисертацията. Списъкът на публикациите по материали от дисертационната

работа съдържа 4 статии, излезли от печат през 2015 и 2016 г., всички от които са в списания с IF. Общият им IF е 7.07 и една от тях, публикувана през 2016 г. вече е цитирана 3 пъти. Тези статии имат от 7 до 9 съавтора, като в 2 от тях Семкова е първи автор. Приведен е и списък с 12 участия в национални и международни конференции, като 2 от тези участия са отличени с награди.

В заключение, в дисертационната работа са получени интересни нови резултати относно характеристиките и възможностите за маркиране и визуализация на изследваните наночастици, както и за влиянието на електрически импулси върху *in vitro* и *in vivo* проникването им в туморни клетки. Тези резултати са публикувани в авторитетни списания и вече намират отражение в световната научна литература. Считаю, че с тази дисертация са изпълнени всички необходими изисквания и предлагам с пълна увереност на уважаемото жури да присъди на Северина Йорданова Семкова исканата образователна и научна степен "доктор".

18 март 2017 г.

Подпис:

(Борис Тенчов)