

## **РЕЦЕНЗИЯ**

**от проф. дбн Иван Илиев Атанасов, Агробиоинститут, София, ССА**

на дисертационен труд за присъждане на образователната и научна степен 'доктор'

в област на висше образование: **4. Природни науки, математика и информатика**

професионално направление: **4.3 Биологически науки**

докторска програма: **Генетика – генно инженерство**

**Автор: Лозена Адрианова Отчева, редовна докторантка** към катедра Генетика, Биологически факултет, Софийски университет „Св. Кл. Охридски“.

**Тема: Дизайн и експериментално тестване на химерни антисенс-олигонуклеотиди като антибактериални агенти.**

**Научен ръководител: проф. Д-р Роберт Пенчовски,** Биологически факултет, Софийски университет „Св. Кл. Охридски“.

### **1. Общо описание на представените материали**

Със заповед РД-38-546 от 23.11.2020 г. на Ректора на Софийски университет „Св. Кл. Охридски“ съм определен за член на научното жури по процедура за защита на дисертационен труд на тема „Дизайн и експериментално тестване на химерни антисенс-олигонуклеотиди като антибактериални агенти“ за придобиване на образователната и научна степен ‘доктор’ в област на висше образование: 4. Природни науки, математика и информатика, професионално направление: 4.3 Биологически науки, докторска програма: Генетика – генно инженерство. Автор на дисертационния труд е Лозена Адрианова Отчева, редовна докторантка към катедра Генетика, Биологически факултет, СУ „Св. Кл. Охридски“ с научен ръководител проф. Д-р Роберт Пенчовски, Биологически факултет, СУ „Св. Кл. Охридски“. Представеният от Лозена Адрианова Отчева комплект материали по процедурата е в съответствие с Правилника за развитие на академичния състав на СУ „Св. Кл. Охридски“.

### **2. Кратки биографични данни за докторантката**

Лозена Отчева е родена на 10.09.1985 г. През 2013 г. получава магистърска степен по Фармация и индустриална фармация от Римски университет "Ла Сапиенца" Италия, а от 2016 г. е зачислена като редовен докторант към катедра Генетика, Биологически ф-т, СУ „Св. Кл. Охридски“. От 2014 г. работи и като фармацевт магистър. Владее италиански и английски. За периода на докторантурата участва в колективите и изпълнението на общо четири проекта

финансирани от Фонд „Научни изследвания“, като един от тях (ДН13/14 - 20.12.2017) е основа за реализирането на дисертационната работа. Постер представен от Лозена Отчева на 14-ти конгрес на микробиолозите в България с международно участие е награден с второ място.

### **3. Актуалност на тематиката и целесъобразност на поставените цели и задачи**

Изследванията в рамките на представената дисертационна работа включват дизайн и експериментално тестване и оценка на антибактериалното действие на химерни анти-сенс-олигонуклеотиди /АСО/ които се свързват специфично с бактериална иРНК, кодираща ензима аденилат киназа /АДК/ при *Staphylococcus aureus* и с тамин пирофосфатния /ТПФ/ рибопревключвател /РП/ при *Listeria monocytogenes*. Антибиотична резистентност при патогенните бактерии, в резултат от интензивното използване на конвенционални антибиотици, е изключително сериозен и постоянно растящ глобален проблем застрашаващ здравето на населението и основни стопански сектори като животновъдството. Това определя и високия интерес към разработване и прилагане на принципно нови антибактериални агенти и терапии. Използването на АСО като антибактериални агенти е модерна и перспективна възможност за прилагане на високоспецифични антибактериални терапии, включително и за персонализирана медицина. Всичко това прави изследванията в представения дисертационен труд актуални, оригинални, с очаквано висок положителен ефект и предоставящи основа за следващи приложения като основа на антибактериални терапии.

### **4. Познаване на проблема**

Дисертационния труд включва богат и изчерпателен литературен обзор по основните теми и проблеми на дисертацията, вкл.: класификация на антибиотиците, видове и механизми на антибиотичната резистентност, нови антибактериални агенти и богата и добре систематизирана информация относно приложенията на АСО като антибактериални агенти. Всичко това заедно с дискусиите на получените резултати и бъдещи перспективи за приложенията на АСО демонстрира задълбочени информираност и познаване от докторантката на комплексната проблематика свързана с темата на дисертационната работа.

### **5. Методика на изследването**

В дисертационния труд са използвани две основни групи методи, вкл.: голям набор от биоинформатични методи, информационни източници и бази с данни (RNAfold web server, PATRIC, ExPASy, Clustal W/Clustal X, BLAST, NCBI, KEGG Pathway и др.) за биоинформатичен анализ и подбор на най-подходящи мишени / последователности за дизайн на АСО, както и микробиологични методи за тестване и оценка на антибактериалното действие на конструираните АСО.

## **6. Характеристика и оценка на дисертационния труд**

Дисертационният труд е представен в общоприетия стил върху 159 страници разпределени като Увод (3 стр.), Литературен обзор (36 стр.), Цели и задачи (1 стр.), Материали и методи (14 стр.), Резултати (41 стр.), Изводи (2 стр.), Приноси (2 стр.), Библиография (14 стр., 327 цитирания). Дисертационният труд включва общо 39 фигури и 14 таблици, като част от фигурите са представени цветно, което допринася допълнително за тяхната информативност, добро представяне и илюстриране на дизайна и функционирането на АСО. Литературния обзор е богат и с включени значителен обем литературни данни и добре систематизирани обсъждания по основната тема на дисертационната работа. Целта и задачите на дисертационния труд са ясно формулирани. Методология. В изследванията по дисертацията докторантката използва широк набор от биоинформатични методи, използване на специализирани софтуери и бази с данни, както и необходимия набор от микробиологични методи. Използваните материали и методи са съответно изчерпателно представени в дисертационния труд. Резултати. Резултатите са представени коректно, ясно и в логичната им последователност. След частта с резултати и обсъждания в дисертационната работа, докторантката е включила са включени и отделна част ‚Дискусия бъдещи перспективи‘ (13 стр.) в която систематизирано и е представила последователността от стъпки за разработване и изпитване на ново лекарство на базата на АСО, както и отделна част ‚Дискусия на дисертационния труд‘ (4 стр.) включваща обобщено обсъждане на получените резултати и възможностите за следващи приложения на АСО. Считаю че включването на тези две части с обособени дискусии допринасят за общото качество и информативност на дисертационната работа и значително улесняват ползването ѝ като информационен източник по тези въпроси. Изводи и приноси. Като цяло формулираните изводи и приноси представят добре получените резултати в тяхната пълнота, комплексност и значимост. Забележки по начина на формулирането им в дисертационния труд са посочени в т.11 по-долу. Цитираната литература включва общо 327 литературни източника на английски език, което демонстрира високата информираност и познания на докторантката по темите отнасящи се до дисертационната работа. Като цяло дисертационния труд е написан интелигентно с ясно и коректно представени резултати, обсъждания и обобщаващи дискусии по темата на дисертацията.

## **7. Приноси и значимост на разработката за науката и практиката**

Представените в дисертационната работа резултати и дискусии са оригинални и с висока и значимостта както за науката, така и с реални перспективи за по-нататъшни практически приложения. Оригиналните научни приноси включват: предлагане въз основа на проведен

биоинформатичен анализ и успешно първо експериментално потвърждение на използването на иРНК кодираща ензима аденилат киназа /АДК/ и тамин пирофосфатния рибопревключвател /ТПФ-РП/ като мишени на АСО за инхибиране на растежа на патогенни бактерии, вкл. *S. aureus* и *L. monocytogenes*; Предлагане, след биоинформатичен анализ, на АДК като подходяща мишена на разработване на нови антибиотици; Разработване на оригинални АСО (АСО1 и АСО3) за мишена ензима АДК при *S. aureus* и демонстриране на ефективността на бактерицидния им ефект след пренос с клетъчно-проникващ пептид /КПП/ рVЕС. Демонстриране и значението на избора и ефективността на пренос на избрания КПП за общия ефект от третирането с АСО на бактериални култури.; Използване на ТПФ-РП при патогенни бактерии като мишена на разработен в дисертационната работа химерен АСО (АСО4), като свързването с мишената и антибактериалното действие на този АСО е потвърдено с *in vitro* експерименти при бактериите *L.monocytogenes* и *B.subtilis*.; Демонстриране на липсата на антибактериално действие на АСО (АСО2) за които няма данни за възможни мишени в известните досега бактериални геноми. Освен посочените приноси от преките резултати от дисертационната работа, трябва да се отбележи и общия принос на дисертационния труд за популяризиране на възможностите за различни практически приложения на АСО, като в този смисъл дисертацията представя нагледно последователност от стъпки за разработване и тестване на АСО които могат да се прилагат при различни видове бактерии и възможни мишени. В допълнение включената ‚Дискусия бъдещи перспективи‘ е пряко насочена към възможностите за използване на АСО при разработка на лекарствени препарати.

## **8. Преценка на публикациите по дисертационния труд**

Резултатите от дисертационния труд са публикувани в рамките на две научни публикации, в списания с импакт фактор (*Biomedical Journal of Scientific & Technical Research* и *EC Microbiology*.), сочещо, че резултатите от дисертационната работа представляват интерес за научната общност. Освен в публикации в научни списания, докторантката е представила резултати от дисертацията в два постера на 14-ти конгрес на микробиолозите в България с международно участие на 10-13.10.2018г. в гр. Хисаря, България (единият от който е награден с второ място в конкурса за постери).

## **9. Лично участие на докторантката**

Докторантката е съответно първи и втори автор в двете научни публикации по дисертационния труд, резултат от личното и пряко участие в съответните изследвания.

## 10. Автореферат

Авторефератът е направен според изискванията и представя напълно съдържанието на дисертационния труд, включвайки: цели и задачи; резултати и дискусия; изводи; приноси, посочени публикации свързани с дисертацията и цитиране на публикация

## 11. Критични забележки и въпроси

*Критични забележки относно дисертационния труд.* Приемам формулираните в дисертационната работа приноси, но считам че представянето им би могло да бъде „по-стегнато“ и фокусирано върху оригиналността и значимостта им, като част от включената в тях по-конкретна и детайлна информация бъде представена в изводите на дисертационната работа. По мое мнение това в по-голяма степен би привлякло вниманието на читатели които за първи път се запознават с дисертационната работа и трябва да решат дали да се запознаят с пълния ѝ обем. Трябва да отбележа, че посоченото по-никакъв начин не омаловажава представените в дисертационния труд резултати и научни приноси от това ново и значимо научно изследване.

*Въпроси към докторантката.* Нямам въпроси по представените в дисертационната работа резултати и дискусии. Бих желал да използвам възможността да задам два въпроса свързани с следващи приложения на АСОиди с антибактериално действие.

- има ли информация в достъпната литература относно продължителността на съществуване на интактни/функционални АСО, напр. сходни на разработените в дисертационната работа, в различни естествени среди характерни за развитие на третираните бактерии, както и в бактериалните клетки след преноса на АСО в тях

- има ли информация за възможен и/или доказан механизъм в бактериалните клетки за избягване, неутрализиране или преодоляване на антибактериалното действие на функционални АСО.

Отчитайки всичко изложено в рецензията по-горе убедено считам, че **използваните методи, получени резултати и обсъждания сочат, че докторантката Лозена Отчева е изграден учен и специалист, притежаващ високи професионални умения, теоретични познания и експериментален опит и умения за извършване на комплексни изследвания с широки приложения на биоинформатични анализи при микроорганизми и използване на микробиологични методи за оценка на антибактериалното действие на различни агенти.**

## **ЗАКЛЮЧЕНИЕ**

Дисертационният труд **съдържа значими научни резултати, които представляват оригинален принос, имат реални перспективи за следващи приложения и напълно отговарят на всички изисквания** на Закона за развитие на академичния състав в Република България (ЗРАСРБ), Правилника за прилагане на ЗРАСРБ и съответния Правилник на СУ „Кл. Охридски“. Представените материали и дисертационни резултати напълно съответстват на специфичните изисквания на Биологически ф-т, СУ „Кл. Охридски“.

Дисертационният труд показва, че докторантката **Лозена Адрианова Отчева притежава задълбочени теоретични знания и професионални умения по научна специалност генетика – генно инженерство и микробиология** като демонстрира качества и умения за самостоятелно провеждане на научни изследвания.

Поради гореизложеното, **убедено давам своята положителна оценка** за проведеното от Лозена Отчева изследване, представено от рецензираните по-горе дисертационен труд, автореферат, постигнати резултати и приноси, и **предлагам на почитаемото научно жури да присъди образователната и научна степен ‘доктор’ на Лозена Адрианова Отчева в област на висше образование: 4. Природни науки, математика и информатика, професионално направление 4.3 Биологически науки, докторска програма Генетика – генно инженерство.**

22.01. 2021 г.

Рецензент: .....

проф дбн Иван Атанасов