

РЕЦЕНЗИЯ

от

**Чл. кор. Проф. Драга Тончева, дбн, Ръководител на Катедрата по
медицинска генетика, МУ София**

Относно: дисертационен труд на Николет Илиева Павлова на тема “Биоинформатичен и геномен анализ на рибопревключватели и свързани с тях биохимични пътища при човешки патогенни бактерии и използването им като мишени за създаване на нови бактериални агенти“ за присъждане на образователна и научна степен “ДОКТОР” в област на висше образование: „Природни науки, математика и информатика”, Професионално направление шифър 4.3, Биологически науки - Генетика. Научен ръководител на докторанта е доц. д-р Роберт Димитров Пенчовски.

Представената ми за рецензия дисертация е структурирана съгласно Закона за развитие на академичния състав в Република България (ЗРАСРБ) и съдържа всички основни раздели – въведение (4 стр.), цел и задачи (2 стр.), материали и методи (4 стр.), резултати (73 стр.), обсъждане и заключение (10 стр.), изводи (2 стр.) и приноси (2 стр.), библиография (168 източници), 5 таблици и 43 фигури.

Актуалност на темата.

Резистентността към антибиотици при лечението на инфекциозни заболявания е тежък проблем за медицината. Въвеждането на всеки нов антибиотик показва временно добри терапевтични резултати до адаптиране на бактериите и развитие на резистентност. Това води до намаляване на лечебния ефект на лекарството и невъзможност за ефективно лечение. Лекарствената резистентност представлява заплаха за здравето на пациентите. В доклад на ООН се обръща сериозно внимание на този проблем, тъй като той увеличава значително разходите за здравеопазване и може да доведе до икономически щети, които се определят по размер „равни на финансовата криза 2008-2009“.

Основен приоритет на Научните организации и фармацевтичните компании е преодоляване на множествената лекарствена резистентност чрез тестване на

нови молекули и антибактериални средства и разработване на нови стратегии за създаване на ефективни антимикробни средства.

Подбраната тема е актуална и важна за практическото здравеопазване. Рибопревключвателите в бактериалните геноми са атрактивни лекарствени мишени, тъй като регулират важни клетъчни функции, липсват в човешките геноми и тяхното манипулиране не създава потенциален риск за нежелани лекарствени реакции. Определянето на функционално значими бактериални молекулни мишени е предпоставка за създаване на изкуствено синтезирани антисенс олигонуклеотиди с потенциал на нови антибактериални агенти. Научният ръководител на докторантката развива това научно направление, което стартира от неговите разработки в лабораторията на Рон Брейкър и успешно продължава да се развива в Катедрата по „Генетика“ на Биологическия факултет на СУ „Св. Климент Охридски“ с една защитена дисертация върху използването на антисенс олигонуклеотидна технология за въздействие върху бактериални рибопревключватели и втори представен за защита дисертационен труд на Николет Павлова, в който се използват биоинформатични и геномни подходи за проучване на рибопревключватели.

Обзорът е написан компетентно, задълбочено е представена структурата на рибопревключвателите и механизма на тяхното действие.

Интересът към рибопревключвателите е голям, защото те са важни за жизнеността на бактериите, играят роля на регулаторни РНК елементи, свързват строго определени лиганди и контролират експресията на голям брой гени чрез различни цис-действащи механизми на терминация на транскрипцията, превенция на трансляцията и дестабилизиране на иРНК, както и чрез транс-действащ регулаторен механизъм. Докторантката е представила схематично и много добре онагледено архитектурния тип на рибопревключвателите - САМ II, пуринов, ТПФ и глицинов; основните стъпки в синтеза и деградацията на прокариотната генна експресия. Важна част от обзора е посветена на разпространението на бактериалните рибопревключватели в човешките патогенни бактерии тях от списъка на СЗО. Описани са механизмите на действие на различните класове антибиотици, използвани в медицината и развитието на резистентност от тяхното масово използване.

Всяка година броят на откритите нови класове рибопревключватели се

увеличава, те се изучават интензивно от международни колективи, които търсят потенциални молекулни мишени за разработване на бъдещи ефективни антибактериални лекарства.

Николет Павлова задълбочено познава литературата по темата на дисертационния труд. На места предизвикват смущение недогледани правописни грешки, които не намаляват стойността и същността на нейната работа, но биха могли при по-внимателен прочит да бъдат коригирани.

Цел и задачи на дисертационния труд

Крайната цел на дисертационния труд е да се оценят възможностите на конкретни рибопревключватели да служат като мишени за създаване на нови антибактериални агенти чрез извършване на биоинформатичен и геномен анализ.

Задачите са мащабни, подробно описани, добре формулирани и обобщени в три подгрупи:

1. Биоинформатичен анализ на 28 рибопревключватели, за да бъде определено тяхното разпространение в биологични видове и в човешки патогенни бактерии, както и да се установи в колко общо видове секвенции и бактериални секвенции се срещат;
2. Проучване на структура на най-разпространените рибопревключвателите и техните известни лиганди;
3. Биоинформатичен и геномен анализ на 8 от най-разпространените рибопревключватели, за да бъде определен техният потенциал като лекарствени мишени, въз основа на критерии за участие във важни биохимични пътища и в синтеза на ключови метаболити или в експресията на активни транспортни белтъци. Друга важна задача на докторанта е да проучи възможни алтернативни пътища за синтез на ключови метаболити за бактериите, които не се контролират от рибопревключвателите.

В методично отношение Николет Павлова използва подходящи множество платформи за извършване на анализите, достъпни в интернет, налични база данни на Националния център за биотехнологична информация (NCBI); Rfam 14.1 колекция от РНК семейства – секвенции, вторични консенсусни структури

и модели; PDB кристалографска база данни за 3D структури на белтъци и нуклеинови киселини; KEGG енциклопедия с гени и геноми; BioСус база данни за биохимични пътища и ExPASy биоинформатичен портал.

Докторантката се изявява не само с използване на чужди софтуерни програми, но и с програми разработени заедно с научния ръководител.

Получени резултати

Получена е информация за разпространението на 28 рибопревключватели в трите домена - бактерии, археи и еукариоти. От бактериалните рибопревключватели, ТПФ е най-широко представен в над 6200 вида, следван от кобаламиновия – в 5000 вида и ФМН – в над 3200 вида. Важно практически приложно значение имат доказателствата, че изследваните рибопревключватели се откриват в общо 49 вида човешки патогенни бактерии - ТПФ в 48 вида, ФМН в 41, кобаламиновия в 36, лизина в 25, глюкозамин-6-фосфат в 26, САМ-I в 20, пурин в 17. Определени са в колко общо видови секвенции е представен всеки рибопревключвател. Най-широко е представен в достъпните бактериални секвенции кобаламиновият рибопревключвател – в над 14200 секвенции, от които 9343 бактериални, след него следва ТПФ – в 12593 секвенции, от които 8762 бактериални. Важен резултат е групирането на бактериални патогени с общ рибопревключвател, което е добра предпоставка за разработване на общ широко спектърен антибактериален агент. Проучена е подробно 2Д и 3Д структури на 7 избрани сред най-разпространените рибопревключватели и техните специфични лиганди. Геномният анализ на нуклеотидните секвенции е разкрива консервативен мотив на аптамерната част на рибопревключвателите, който може да бъде мишена на един анти-сенс олигонуклеотид. Най-значими научни резултати са получени на база на предварително дефинирани критерии, използвани за определяне на възможността за всеки един от 8-те рибопревключватели да бъде молекулна лекарствена мишена. Най-подходящите от тях са лизин, САМ и ФМН (+++). Много подходящи са ТПН и глюкозамин-6-фосфат рибопревключватели, които контролират синтеза на ключов метаболит, но не и неговия внос отвън (++)

Предложена е и стратегия за деактивиране на 8 рибопревключватели, базирана на специфично конструирани АСО антибактериални секвенции.

Тези позитивни оригинални резултати доказват, че най-големият проблем в

борбата с инфекциозните заболявания (развитие на резистентност към терапията) може да бъде успешно преодолян.

Обсъждането е направено адекватно на получените резултати. Текстът е структуриран логически правилно, резултатите са убедителни и добре интерпретирани със задълбочено познаване на материята. Фигурите и таблиците са с много високо качество. Изводите са изведени логично от получените резултати.

Дисертационният труд се отличава с получени значими научни и научно-приложни резултати, изведени от широкомащабен биоинформатичен и геномен анализ на големи бази данни за рибопревключватели. Приведени са убедителни доказателства за номинирани нови молекулни лекарствени мишени с потенциал за ефективна антибактериална терапия.

Резултатите са публикувани в авторитетни международни списания с общ IF 9.436.

Заключение – като имам предвид актуалността на проблема, използваните съвременни техники, получените резултати с важен научен и практически приложен принос за използване на рибопревключватели в антибактериалната терапия, определям дисертационният труд като успешно разработен, отговарящ на всички изисквания на Закона за развитие на академичния състав в Република България (ЗРАСРБ).

Във връзка с гореизложеното, оценявам високо резултатите на докторантката и си позволявам да препоръчам убедено на уважаемото Научно жури да присъди на Николет Илиева Павлова образователна и научна степен “ДОКТОР” в област на висше образование: „Природни науки, математика и информатика”, професионално направление: „Биологически науки”, Шифър 4.3, Научна специалност: „Генетика”.

01.09.2019, София

Рецензент:

Чл. кор. Проф. д-р Драга Тончева, дбн

Ръководител на катедра по медицинска генетика, Медицински Университет, София