

РЕЦЕНЗИЯ

на дисертационен труд на тема "Разработване на мултифункционални бионанопроби на основата на квантови точки: структура, физикохимични характеристики и приложение за флуоресцентни имиджинг анализи и фотосенсибилизация"

представена за присъждане на научната степен „Доктор на науките“

Автор: доцент д-р Румяна Атанасова Бакалова-Желева

Рецензент: професор Албена Момчилова, дбн

член на научно жури за присъждане на научната степен „доктор на науките“
съгласно решение на Научния съвет на Медицински факултет на Софийски
университет „Св. Кл. Охридски“ от 18.06. 2011г.

Представеният ми за рецензия дисертационен труд е насочен към възможностите за приложение на флуоресцентни методи в медицинската практика с диагностична цел и по-конкретно към използването на авангардни високотехнологични експериментални подходи, включващи разработване и прилагане на флуоресцентни наночастици за образна диагностика. Значението на подобни изследвания е извън всякакво съмнение поради възможността да бъдат съчетани високата информативност на нанотехнологичните флуорофори с техните уникални физикохимични параметри, както и безспорните им предимства пред радиоактивните изотопи от гледна точка на максимално запазване на прилежащите тъкани. По своята същност, тези техники се отличават с висока чувствителност, която се съчетава с подчертано по-малък риск за здравето на хората, а освен всичко останало са по-щадящи и от екологична гледна точка. Поради високата резолюция на апаратурата за флуоресцентен имиджинг, е възможна визуализацията на отделни клетки и дори клетъчни фрагменти, което илюстрира достатъчно убедително големия потенциал и добрите перспективи за използване на тези методични подходи в

областта на функционалната диагностика. Казаното дотук е доказателство за изключителната актуалност на избраната тематика, както и за добрите възможности за практическо приложение на получените резултати на медико-диагностично ниво.

Дисертационния труд е написан на 235 страници, последвани от 41 страници литературна справка и е структуриран по стандартния начин, състоящ се от следните раздели: Литературен обзор обхващащ 75 страници, „Цели и задачи”, „Материали и методи на 12 страници и „Експериментални резултати и дискусия” – на 119 страници. Резултатите са представени в 85 фигури и 23 таблици, а библиографията обхваща 526 заглавия, повечето от които след 2000 г.

Литературният обзор е написан изключително компетентно и показва задълбочените познания на дисертантката по конкретната тематика. В него подробно са очертани проблемите в областта на флуоресцентната имиджинг диагностика, както и перспективите пред приложението на флуоресцентните нанокристали в медицинската практика с диагностична цел. Този раздел е в тясна логическа връзка и въвежда много удачно читателя към изложените експериментални резултати и тяхното обсъждане.

Поставените цели и задачи, които са формулирани ясно и конкретно, предполагат използването на съвременни високотехнологични биофизични и биохимични методи, които са описани подробно в раздела „Материали и методи”. Методичната част представлява един отличен атестат за професионалната подготовка на докторантката. Експерименталните процедури са описани ясно и достатъчно подробно, и могат да бъдат възпроизведени без ползването на допълнителни източници.

Справката на приносите, включваща такива с оригинален и потвърдителен характер, е написана много информативно и е добре систематизирана, което оценявам много положително на базата на голямото количество експериментални резултати. Накратко, основните приноси могат да бъдат резюмирани по следния начин:

1. Разработени и защитени с патент са QDCdSe наночастици с адекватни на диагностичните цели физикохимични параметри, като например малък размер, висок квантов добив, време на живот на time-resolved флуоресценция от порядъка на 20-40 ns, висока стабилност в телесни течности и др.
2. Разработена и защитена с патент е оригинална методика за получаване на високофлуоресцентни QD CdSe/ZnS наночастици, които се характеризират с висок квантов добив в хидрофилна среда. Разработени са оригинални QD наночастици, които комбинират флуоресцентни и парамагнитни свойства.
3. Чрез свързване на QD наночастици с растителни лектини е създадена флуоресцентна проба, която може да бъде използвана за диференциране на нормални от левкемични клетки.
4. Разработени и защитени с патент са методики основани на QD проби за анализ на протеини в минимални количества, при които е избегната предварителната преципитация и концентриране.
5. На базата на QD-олигонуклеотидни хибриди (QD-siPHK) е създаден метод за селекция *in vitro* на антисенс siPHK секвенции с висок афинитет към съответната сенс информационна mPHK белязана с Cyanin-5, основаващ се на принципа на FRET. Авторите са получили високи корелационни коефициенти между амплитудата на FRET-сигнала и ефективността на хибридизация между съответните секвенции, както и между амплитудата на FRET- сигнала и специфичен антисенс ефект на малката интерферираща РНК, установен чрез RT – PCR и имуноблотинг.
6. Специално внимание заслужава разработената оригинална QD-проба насочена към фотосенсибилизация на туморни клетки в резултат на облъчване с ултравиолетова светлина. Изследванията върху механизма на наблюдаваната цитотоксичност са показали локално генериране на оксидативен стрес поради акумулиране на активни форми на кислорода.
7. Представена е разработка базирана на QD-проба насочена към визуализиране на кръвоносни съдове в условия *in vivo*. Тестовите са показали много добра поносимост на приложения метод при експериментални животни. Методът дава възможност за три-измерна визуализация на кръвоносни съдове, което наред с добрата поносимост

дава една отлична перспектива за приложението му в медицинската практика.

Резултатите с потвърдителен характер се свеждат предимно до прецизиране на параметрите и физико-химичните характеристики на QD пробите, както и възможностите за тяхното приложение в условия *in vivo* с оглед тяхната биопоносимост и цитотоксичност.

Предложените проби и методиките за тяхното приложение имат добре разработена теория, а получените резултати от тях имат количествен характер и носят несъмнено нова и ценна за науката информация.

Във връзка с дисертацията са публикувани 27 научни труда, от които 19 статии са в чужди научни журналы и 8 са публикации от научни форуми издадени в пълен текст. В 13 от тези трудове Румяна Бакалова е първи автор, а в 19 от тях е кореспондиращ автор. Почти всички статии са публикувани в списания с висок импакт фактор, като тука специално бих откритола Nature Biotechnology (29.495), Nature Photonics (22.869), Nano Letters (9.991), Journal American Chemical Society (8.58), Chemical Communications (Cambridge) (5.504), Analytical Chemistry (5.214), Inorganic Chemistry (4.657) и др.

Представен списък от 8 патента, свързани с тематиката на дисертационния труд.

Тоталният импакт фактор на публикациите, по данни на кандидатката, е 122.7, а индивидуалния импакт фактор – 25.38.

Броят на цитиранията на публикациите свързани с дисертационния труд надвишава 500.

Финансирани са 2 проекта във връзка с темата на дисертацията, от които на единия, който е финансово подкрепен от Министерството на науката, труда и технологиите в Япония, г-жа Бакалова е била ръководител.

Публикуваните резюмета от участия в научни форуми, свързани с темата на дисертацията имат общ импакт фактор над 20.

Документирани са над 30 подчертано положителни отзиви относно публикации свързани с дисертацията.

Заключение:

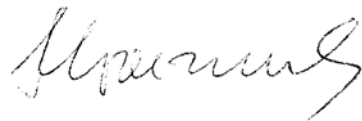
Дисертационният труд на Румяна Бакалова представлява един значителен по обем и качество научен продукт. Той характеризира неговия автор като много добре подготвен в теоретично и практическо отношение учен в областта на биофизиката и по-конкретно в разработването и приложението на флуоресцентни бионанопроби на базата на квантови точки в сферата на биомедицинската диагностика.

Познавам лично Румяна Бакалова и имам отлични впечатления от нея като колега. Не за първи път рецензирам нейното научно творчество и мога да кажа, че за пореден път съм впечатлена от акуратността и прецизността, с които са написани нейните научни трудове и са подготвени нейните материали, което в максимална степен улеснява тяхното рецензиране. За мен като рецензент е удоволствие да се срещна с разработки на такова високо научно ниво. Доцент Бакалова е учен с висока компетентност в областта на биофизиката и считам, че с нейното завръщане в България, общността на българските учени в тази сфера на познанието се обогатява с един ценен колега с голям опит и значителен потенциал.

Всичко това ми дава основание да препоръчвам убедено на членовете на Научното жури да гласуват за присъждане на научната степен „Доктор на науките” по направление 4.3. „Биологични науки” (биофизика) на Румяна Атанасова Бакалова-Желева.

02.08.2011г.

Рецензент:



/проф. Албена Момчилова/