

## РЕЦЕНЗИЯ

**Върху:** дисертационен труд, представен за присъждане на ОНС „Доктор” в Област на висше образование 4. „Природни науки, математика и информатика“, Професионално направление 4.3 „Биологически науки“, Научна специалност “Биохимия” шифър 01.06.10 в Институт по Експериментална Морфология, Патология и Антропология с Музей - БАН

**Подготвил рецензията:** доц. д-р Людмила Кабаиванова, Институт по Микробиология „Стефан Ангелов“ – БАН, София

**Докторант:** Инна Суликовска

### Общи бележки

Във връзка с получения от мен за рецензия дисертационен труд на тема: “Оптимизиране и адаптиране на метода за определяне на фототоксичност *in vitro* 3T3 NRU *phototoxicity test*, към LED – слънчев симулатор Helios-iO”, са представени резултатите от проведената научно-изследователска дейност на докторантката Инна Суликовска. Те са обобщени в цялостен труд от 147 стандартни страници, който съдържа всички необходими раздели на една дисертация – увод, задълбочен литературен обзор по темата на дисертацията, като са включени 322 източника, цел и задачи, материали и методи, резултати и дискусия, последвани от изводи и приноси, произлизащи от постигнатите резултати. Получените резултати са подкрепени и онагледени с 60 фигури и 16 таблици.

**Темата** на дисертационния труд е актуална, доколкото въз основа на настъпващите в последните години климатични промени, се наблюдава повишаване на агресивността на слънчевите лъчи, както и се увеличава броят на потенциално фоточувствителни вещества, които все повече се включват във фармацевтични и козметични продукти. Тази тема предизвиква нарастващ интерес и придобива голямо значение, и се насочва към

намирането на *in vitro* подходи за оценка на безопасността на новосинтезирани съединения и природни продукти, за да се избегнат някои странични реакции в човешкия организъм. Това се налага защото биологичните мишени при фотосенсибилизацията са клетъчните мембрани, цитоплазмените органели и ядрото на клетката. Поради тази причина започва провеждането на тестове и изпитания за фотобезопасност, което изисква използваният слънчев симулатор, максимално да наподобява по физически параметри естествената слънчева светлина.

В частта „Литературен обзор“, Суликовска показва много добро познаване на проблематиката, свързана със светлинно индуцираните биологични ефекти - фототоксичност и фотодинамичен ефект и изследването на антитуморната активност на новосинтезирани съединения и природни продукти, при *in vitro* условия. Доброто познаване на наличната литература позволява ясно да се маркират посоките на настоящото изследване.

В представения за рецензиране материал е формулирана основната Цел на дисертационния труд, която е оптимизиране и адаптиране на методи за определяне на фототоксичност (*in vitro* 3T3 NRU phototoxicity test), към LED - слънчев симулатор (*Helios-iO, модел LE-9ND55-H - 5500K*), за по-бързо и качествено изследване на фототоксичността на вещества със синтетичен и природен произход с потенциална антитуморна активност. Търсенето на нови природни и синтетични субстанции с високо ниво на безопасно приложение в областта на антитуморната терапия, е основна линия в дисертационния труд.

Поставените за изпълнение Задачи залегнали в логична последователност и са пряко свързани с поставената цел. Те включват:

- измерване на физичните характеристики на излъчената светлина (светлинен спектър, мощност, хомогенност на осветяване и др.);

- оптимизиране и адаптиране на протокол за определяне на фототоксичността (*in vitro* 3T3 NRU phototoxicity test) към LED - слънчевия симулатор;

- определяне ефективността на LED - слънчевия симулатор, при изследване на различни видове съединения за фототоксичност;

-скрининг на възможностите за използване на описания слънчев симулатор при тестове за фотобезопасност на вещества със синтетичен и природен произход с потенциална антитуморна активност.

В частта „**Материали и методи**” е описана използваната методология, която включва определяне физическите характеристики на излъчената светлина от използвания слънчев симулатор при тестовете за фототоксичност, оптимизиране на протокола за определяне на фототоксичност и определяне на антипролиферативен ефект при нормални и туморни клетъчни линии. Използвани са възможностите на светлинната и флуоресцентната микроскопия. Оценката за безопасност и използването на нормални и туморни клетъчни линии, за определяне на антипролиферативния ефект на изследваните вещества представлява важна финална фаза на експерименталната постановка. Анализирани са потенциалът за безопасното приложение и ефективност на вещества с потенциално антитуморно действие. Методите за оценка на получените резултати и изискват доброто владение на подходи и методология, използвана в биохимичните, биофизичните и биомедицинските изследвания. Всичко това демонстрира добрата лабораторна подготовка на Инна Суликовска.

В частта „**Резултати и обсъждане**” е представена конкретната научно-изследователска работа, отразена в дисертацията, касаеща оптимизация на определянето на фототоксичност чрез *in vitro* 3T3 NRU phototoxicity test, към LED - слънчев симулатор (Helios-iO, модел LE-9ND55-H - 5500K). Това е продиктувано от факта, че излагането на кожата на слънчева светлина в комбинация с фотореактивни ксенобиотици може да доведе до аномална кожна реакция - фототоксичност. От особено значение е разделът посветен на бързото и качествено изследване на фототоксичността на вещества със синтетичен и природен произход, които все-повече се налагат като алтернатива, с потенциална антитуморна активност. Анализът на получените резултати в дисертационния труд ни убеждава във важността на проведените изследвания.

От получените резултати, са изведени следните **изводи**:

1. Определените физични характеристики: светлинен спектър, мощност и плътност на разпределение на мощността на тествания слънчев симулатор (Helios-iO, модел LE9ND55-

H - 5500K) са сходни с естествената слънчева светлина. Поради това описаният светлинен източник е подходящ за извършване на тестове за фототоксичност.

2. Проведените биологични експерименти: *in vitro* тест за фототоксичност, светлинна и флуоресцентна микроскопия, ясно показват наличие на фототоксичен ефект при клетките, третирани с Акридин оранж и Радахлорин. Това е пряко доказателство, че тестваният слънчев симулатор е ефективен и подходящ за извършване на тестове за фототоксичност.

3. Тестовите за фототоксичност при вещества с природен и синтетичен произход демонстрират тяхната фотобезопасност и перспектива за приложение във фармацевтични и козметични продукти. Също така това показва практическото приложение на валидирания светлинен източник.

4. Получените резултати за антипролиферативната активност при етилацетатния екстракт, изолиран от *Cotinus coggygia* Scop. показват висока селективност (SI = 11,2), при клетъчната линия HeLa, което е предпоставка за по-детайлното охарактеризиране и задълбочено изследване на този екстракт като потенциален антитуморен агент.

5. Новосинтезираните съединения, производни на тиено[2,3-d]пиримидините 4, 5, показват висока селективност SI = 19,3 и 15,8 съответно при клетъчната линия MCF-7. Тази висока селективност е съизмерима със селективността на терапевтици, рутинно прилагани при лечение на туморни заболявания.

**Формулираните изводи, очертават следните оригинални приноси:**

1. Валидиран е LED - слънчев симулатор Helios-iO, модел LE-9ND55-H - 5500K, като светлинен източник, при *in vitro* тест за фототоксичност (*in vitro* 3T3 NRU phototoxicity test). Определени са физическите характеристики на слънчевия симулатор, както и биологичните ефекти, които предизвиква при облъчване на BALB 3T3 клетъчна култура, третирана с фототоксични вещества (акридин оранж и хлорин еб).

2. Слънчевият симулатор Helios-iO е успешно използван при тестове за безопасност на природни продукти и синтетични съединения (4 растителни екстракта и 14 синтетични вещества). При никоя от тестваните проби не бе наблюдаван фототоксичен ефект. Това

позволява безопасна употреба на тестваните субстанции в областта на козметиката и фармацевцията.

3. При направения скрининг за антитуморна активност са идентифицирани няколко вещества с висока селективност (ССА, Ethyl 4-Amino-5-methyl-2-(4-nitrobenzyl) Thieno [2,3-d] Pyrimidine-6-carboxylate и Ethyl 4-Amino-2-benzyl-5-methyl-thieno[2,3- d]pyrimidine-6-carboxylate), което показва потенциал за приложение в терапията на онкологични заболявания с ниско ниво на странични ефекти.

Представеният **автореферат** представлява обща характеристика на дисертационния труд и е подготвен по всички правила за подготвянето на такъв.

### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

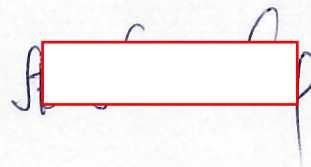
Представеният ми за рецензия дисертационен труд съдържа научни и научно-приложни резултати, представляващи съществени научни приноси.

Научноизследователската работа на Ина Суликовска е представена пълно, ясно и обосновано в дисертационен труд, като авторката е успяла да публикува важна част от получените резултати в научни издания с високо въздействие сред научната общност – една публикация с Q1 и импакт фактор 4,412 и втора – с Q3 и импакт-фактор 0,198. Резултати от експерименталната работа са били представени и на 4 научни конференции. Вижда се, че докторантката изпълнява напълно изискванията за получаване на ОНС „Доктор“ според ЗРАСРБ и на ИЕМПАМ – БАН.

Във връзка с изложеното по-горе, убедено давам положителното си мнение за присъждане на ОНС „Доктор“ на Ина Суликовска.

30.06.2022. г.

Изготвил рецензията:



/Доц. д-р Людмила Кабаиванова/