

**Хабилитационна разширена справка за научните приноси
на гл. ас. д-р Теодора Иванова Тодорова,**

предоставена във връзка с участието в конкурс за заемане на академичната длъжност „доцент“ по професионално направление **4.3. Биологически науки, научна специалност "Генетика"**, за нуждите на секция "Мутагенеза от околната среда", отдел "Екосистемни изследвания, екологичен риск и консервационна биология" към ИБЕИ-БАН

Въведение

В секция „Мутагенеза от околната среда” се работи по четири основни направления:

- Оценка на мутагенните и комутагенните свойства на ксенобиотици от околната среда чрез използване на комплекс от *in vivo* и *in vitro* тестове и критерии с различни разрешителни възможности: микробиологични, цитогенетични, биохимични и молекулярни;
- Анализ на ефектите от антропогенезата върху живите организми;
- Анализ на механизмите на генотипната и индуцираната устойчивост (адаптивен отговор–АО) при растенията, животните и човека и изследване мащаба на тази адаптация от устойчивостта на генома;
- Профилактика на индуцираната мутагенеза (антимутагенеза), посредством екзогенно прилагане на природни продукти.

От 01.01.2012 г. като докторант в Секцията започнах работа по тема: „ДНК защитен потенциал на биологично активни природни съединения с растителен произход”. Изследванията бяха проведени на две тест-системи - *Saccharomyces cerevisiae* и *Chlamydomonas reinhardtii*. Въвеждането на *Saccharomyces cerevisiae* допринесе за разширяване на комплекса от тест-системи и маркери за оценка на биологичната активност на стандартни химични и природни продукти. Резултатите от изследванията бяха оформени в дисертационен труд като скрепени публикации и беше защитен успешно през 2015 г. Публикувани бяха 4 статии, три от които с импакт фактор (документ 6 – списък на научните трудове).

Като асистент, а по-късно като главен асистент продължих и задълбочих работата си в три области:

- Скрининг за генотоксичност, мутагенност, канцерогенност и ДНК увреждащо действие на физични и химични фактори, присъстващи в околната среда с използването на химични, микробиологични, биохимични и молекулярни методи.
- Механизми на генотипната и индуцираната устойчивост
- Профилактика на индуцираната мутагенеза (антимутагенеза), посредством екзогенно прилагане на природни продукти.

Успешното прилагане на *Saccharomyces cerevisiae* като моделна система и добавянето на нови методики за оценка на канцерогенния/антиканцерогенния потенциал на вещества разшири комплекса от тест-системи, използван в секция „Мутагенеза от околната среда” и допринесе за по-задълбочен анализ на потенциалните ползи или вреди на различни вещества и фактори от околната среда [B4.1; B4.2; B4.3; B4.5; B4.6; B4.7; G5.1; G7.1; G7.3; G7.4; G7.8].

Статиите, в показател В „Хабилитационен труд” покриват основните насоки на работа по посочените по-горе области на научни изследвания. Въпреки, че публикациите са разделени по показател В и Г, те са в областта на мутагенеза от околната среда и са обособени в трите основни области. С цел избягване на повторение във формулировката, приносите са обединени за Показателите В и Г.

Научна област 1: Скрининг за генотоксичност, мутагенност, канцерогенност и ДНК увреждащо действие на физични и химични фактори, присъстващи в околната среда с използването на химични, микробиологични, биохимични и молекулярни методи.

Използването на набор от тест системи – *Saccharomyces cerevisiae* [B4.1; B4.2; B4.3; B4.5; B4.6; B4.7], *Chlamydomonas reinhardtii* [B4.5; B4.8] и *Chlorella vulgaris* [B4.4] и маркери с различни разрешителни възможности позволи да се направи по-обстоятелствен скрининг за генотоксичност, мутагенност, канцерогенност и ДНК увреждащо действие на физични [B4.1; B4.4] и химични [B4.2; B4.3; B4.5; B4.7] фактори от околната среда, в това число и природни продукти с растителен произход [B4.6; B4.8].

1. При моделен обект дрожди *Saccharomyces cerevisiae* е установено, че обработката с ниски температури от +4⁰С до -20⁰С има про-оксидантен, мутагенен и рекомбиногенен потенциал, индуцирайки два типа ядрени мутации - реверсни мутации в *ilv1-92* алела в кодиращите райони на хромозома V, мутации с изместване рамката на четене (frameshift) в микросателитните райони на ДНК и две генетични събития - митотичен кросинговър между центромерата и *ade2* локуса на хромозома XV и митотична генна конверсия в *trp5* локуса на хромозома VII (потенциал). Получените резултати допринасят за изясняване механизмите на действие на ниските температури върху ядрената ДНК. [B4.1; G5.1]
2. Използвайки набор от мутантни щамове *Saccharomyces cerevisiae* е доказано, че гените *RAD9*, *RAD24*, *RAD53* и *DUN1* са част от каскадния път, по който се активира Ту1 ретротранспозицията в отговор на нискотемпературно третиране. Получените резултати са принос към изясняване на канцерогенният потенциал на температури от +4⁰С до -20⁰С, активирайки Ту1 ретротранспозиционни събития. [B4.1; G5.1]
3. Доказаният ДНК увреждащ потенциал, измерен като ниво на индуцирани ДВР на UV-B, хлорпирифос, менадион, зеоцин, неполярна фракция от метанолов екстракт на *Origanum vulgare* subsp. *hirtum* и етеричното му масло при различни тест системи е принос към изясняване механизма на действие на тези фактори от околната среда и отправна точка за взаимовръзката между генотоксичност и ДНК увреждащ ефект. [B4.2; B4.3; B4.4; B4.5; B4.7; G7.8; G7.9; G8.2]
4. Установеният факт, че екстракти от плодовете на *Amorpha fruticosa*, кора на *Ailanthus altissima*, листа на *Clinopodium vulgare* L., кайсиеви ядки, както и една от основните му съставки – цианогенния гликозид амигдалин в използваните концентрации не проявяват генотоксичен, ДНК увреждащ, мутагенен и канцерогенен ефект при щамове *Saccharomyces cerevisiae* с различен генотип [B4.6; G7.1; G7.4; G7.8; G8.3], както и че метанолов екстракт от свежи листа на *Origanum vulgare* subsp. *hirtum* и неговата полярна фракция не проявяват генотоксично, ДНК увреждащо и мутагенно действие при тест-система *Chlamydomonas reinhardtii*

[B4.8; Г7.9] е добра отправна точка за по-нататъшното изследване на тези екстракти за целите на антимуtagenезата.

Научна област 2: Механизми на генотипната и индуцираната устойчивост

С проведените комплексни микробиологични и молекулярни изследвания върху четири тест-системи – различни видове *Chlorella*, *Chlamydomonas reinhardtii*, *Saccharomyces cerevisiae* и нормални и туморни клетъчни линии от бозайници допринесоха да се изясни ролята на физиологичното състояние, фазите на митотичния цикъл и химическата природата на тествано вещества като част от механизмите на генотипната и индуцираната устойчивост [B4.2; B4.3; B4.4; B4.6; B4.7; Г7.1; Г7.4; Г7.7; Г7.8; Г8.3]

1. На базата на широк набор от тест-системи – 3 вида *Chlorella*, 4 щама *Chlamydomonas reinhardtii*, 2 щама *Saccharomyces cerevisiae*, 4 вида клетъчни линии от бозайници и три критерия – клетъчно преживяване, ниво на мутации и индукция на ДВР е установен приносът на *rec*, *mismatch*, фотоензимната и тъмнинната репарация при формирането на генотипната устойчивост към действието на хлорпирифос, UV-B и Зеоцин [B4.4; B4.5; B4.6; Г7.1; Г7.4; Г7.7].
2. На базата на първично-индуцираните от Зеоцин и менадион нива на ДВР в хаплоидни и диплоиден клетки *Saccharomyces cerevisiae* е доказана ролята на физиологичното състояние и фазите на митотичния цикъл като част от механизмите на генотипната устойчивост [B4.2; B4.3; B4.7; Г7.8].
3. Получените резултати за разликите в репаративния капацитет на диплоиден щам *Saccharomyces cerevisiae* след комбинирано третиране с екстракт от *Clinopodium vulgare* L. и Зеоцин, както и при хаплоиден щам след единично третиране с различни концентрации Зеоцин в диапазона от 100 до 300 µg/ml допринасят за изясняване ролята на репаративния капацитет в генотипната устойчивост [B4.7; Г7.8].

Област 3: Профилактика на индуцираната мутагенеза (антимутагенеза), посредством екзогенно прилагане на природни продукти

Изследванията относно защитния ефект на екстракти от плодове на *Amorpha fruticosa*, кора на *Ailanthus altissima*, листа от *Clinopodium vulgare* L., кайсиеви ядки и амигдалин позволиха да се направи обширен анализ на ДНК защитното, антигенотоксичното, антимутагенното и антиканцерогенното им действие върху тест-система *Saccharomyces cerevisiae* и да се изяснят част от механизмите на действие на тези екзогенно приложени природни продукти [B4.6; Г7.1; Г7.3; Г7.4; Г7.8; Г8.3].

1. Установеният факт, че пре-третирането с неувреждащи концентрации от екстракти от плодове на *Amorpha fruticosa*, кора на *Ailanthus altissima*, кайсиеви ядки и амигдалин, водещи до по-добро клетъчното преживяване и намаляване на мутагенното и канцерогенното действие на различни ксенобиотици [B4.6; Г7.1; Г7.3; Г7.4; Г7.8; Г8.3] е предизвикателство за включването им в по-нататъшни изследвания за изясняване на механизмите им на действие.
2. Установени са принципни разлики в механизма на ДНК защитното, антимутагенното и антиканцерогенното действие на природни продукти, различаващи се по химичен състав спрямо мутагенния/канцерогенния ефект на стандартни мутагени с различен механизъм на действие: MMS - алкилиращ агент, Cr(VI) - вътреклетъчен индуктор на окислителен стрес, Зеоцин и блеомицин – радиомиметици [B4.6; Г7.1; Г7.3; Г7.4; Г7.8; Г8.3]:
 - 2.1. Получените данни, че най-добре изразеното увеличение на репаративния капацитет след комбинирано третиране с екстракт от листа на *Clinopodium vulgare* L и Зеоцин корелира с индуциране на 1.5 пъти по-високи нива на РКВ, е принос към хипотезата за ефекта на ниските дози като инициатор на ДНК репаративните процеси.
 - 2.2. Най-вероятният механизъм на действие на екстрактите от плодове на *Amorpha fruticosa*, и амигдалин е свързан с активиране, както на еггог-free, така и на еггог-prone рекомбинационни събития.
 - 2.3. Екстрактите от кайсиеви ядки и от кора на *Ailanthus altissima* най-вероятно активират само еггог-prone рекомбинационни събития или водят до промени в

структурата на хроматина и скоростта на транскрипция, тъй като error-free рекомбинационната репарация не е добре изразена. Тези данни са принос при изясняване на механизмите на антимуtagenезата в зависимост от фитохимичния състав.

Гр. София

08.12.2022 г.

С уважение:

Теодора Тодорова