

Р Е Ц Е Н З И Я

От проф. дбн Севдалин Георгиев Ангелов, Катедра

Генетика на БФ при Софийски университет

„Св. Кл. Охридски“, пенсионер

За избор на доцент по научната специалност „Генетика“, професионално направление 4.3, „Биологически науки“, за нуждите на секция „Мутагенеза от околната среда“, при ИБЕИ на БАН

На обявения конкурс в ДВ бр. 81 от 11. 10. 2022г., за придобиване на научната степен и заемане академичната длъжност **„Доцент“**, е допуснат единствен кандидат **гл. ас. д-р Теодора Иванова Тодорова**

I. Кратки Биографични данни

Теодора Иванова Тодорова е родена на 28. 12. 1986г., в гр. Монтана. През 2005г. е приета за студент в Биологическия факултет на СУ „Кл. Охридски“ и завършва през 2009г., с Бакалавърска степен по молекулярна биология. Завършва висшето си образование с отличен успех и през 2011г., придобива квалификация „Магистър по молекулярна биология“. От 01. 06. 2015г., е на работа като асистент в ИБЕИ на БАН и се занимава с проблемите на генотипната устойчивост, скрининг за генотоксичност, мутагенност и канцерогенност на фактори от околната среда. През 2015г., защитава докторска дисертация на тема „ДНК защитен потенциал на биологично активни природни съединения с растителен произход“. Владее отлично английски език, френски и испански на добро ниво. Участва като ръководител и член в редица национални и международни проекти и придобива добри комуникационни умения, които и помагат и в работата като преподавател със студенти.

2. Научни трудове

2.1. Общ преглед на научните трудове

В Конкурса за „Доцент“, д-р Теодора Иванова Тодорова, представя списък от 36 научни публикации. Статията Г8.3, пише, че е приета за печат, но няма представен документ. От представените 36 публикации /при изискващи се общо 15/, на рецензиране подлежат 31 статии, тъй като 4 от статиите са свързани със защитения докторат /i1, i2, i3, i4/. Тъй като докторската дисертация е публично защитена, а свързаните с нея трудове са вече са рецензирани, то те ще бъдат взети под внимание,

но няма да бъдат повторно рецензирани.

От представените 31 научни публикации д-р Т. Тодорова в една е самостоятелен автор- Г5.1 /монография/, в 13 е първи, 7 е втори, 7 трети, в 4 четвърти и пети автор в останалите и т.н.т. 10 от статите са публикувани в списания с IF и са отбелязани 55 цитата /при изискуеми се 20, според бюлетина на ИБЕИ-БАН/. Освен това д-р Т. Тодорова участва в редица национални и международни семинари по екология. Д-р Т. Тодорова участва и в редица национални и международни проекти, като ръководител в 5 и като участник в 6.

Съгласно представената справка от д-р Т. Тодорова, научните публикации са групирани най-общо две групи- а/трудове свързани със защитата на докторската дисертация и б/научни трудове извън дисертацията. Голяма част от тях са насочени към много важни приоритетни области на съвременната генетика. Особено внимание се обръща на антимуtagenните, антниканцерогенни и генотоксично въздействие на ДНК на екзогенно приложени природни продукти. Изключително важно в такива случай е разработването на тест системи с различна резолюция, които могат да дадат акуратна информация на организмово, клетъчно, субклетъчно и молекулно ниво. Едноклетъчните еукариоти, предлагат много предимства, като експериментални модели, поради това, че притежават сравнително малък геном /12Мб/ с малък брой гени /около 6000/. Един такъв представител е *Saccharomyces cerevisiae* с хапло- и диплоидно ниво, което улеснява твърде много провеждането на генетични анализи. Организмите могат да преживеят само ако тяхната ДНК, се реплицира и се протектира от химически и физически увреждания, които биха променили кодиращите и качества. Напоследък една от бързо развиващи се стратегии е свързана с предпазване на клетъчния геном от вредното действие на генотоксични агенти, мутагени и действие на физически агенти-В4.1, В4.4, химически фактори- В4.2, В4.3, В4.5, В4.7, и фактори от околната среда, в това число и природни с растителен произход-В4.6, В4.8. По настоящем в съвременното общество криопротекцията интензивно се използва в репродуктивната биология. Ето защо това е не само актуално, но има важно значение за избягване на мутагенния ефект на ниските температури. Проучванията в тази насока обхващат сериозен период от развитието на научната проблематика не само у нас, но и в световен мащаб. Една от публикациите на д-р Т. Тодорова с висок / IF =1,955/ и добро цитиране /6 цитирания/ е публикацията **В4.1**. Чрез съвременни методи са проучени в детайли замразяващите процедури проведени 1 и 2 часа при +4°C, последвано от 1 час при -10°C и след това 16 часа при -20°C. Интерес представляват данните установени от авторите, а именно, че след подлагане на клетките на минусови температури, мобилността **Ty1** се увеличава 10кратно. В същото време авторите не установяват транспозиция на **Ty1** в клетки с делеции /RAD24, RAD9, RAD53 или DUN1/. Освен това мобилността на **Ty1** е била занижена на нивото на замразената контрола. ***Получените резултати представляват принос за изясняване на канцерогенния и мутагенния потенциал на ниските температури от +4°C до -20°C.***

В много по-широк спектър са представени данните от изследванията на ниски температури и окислителния стрес в монографията на д-р Т. Тодорова /Г5.1/. В монографията се привеждат данни, които ясно показват, че по време на криопрезервацията, се увреждат структури на клетъчната стена на дрождите и клетъчни органели в това число и митохондрии в резултат на което възникват повреди в ДНК. Използването на подходящи криопротектори, като за защита на клетките, се оказва, че не е решен проблем, тъй като концентрацията на криопротекторите се оказва токсична за самите клетки. В монографията д-р Т. Тодорова сполучливо си поставя за цел да изясни генетичните последици от криоконсервирането и окислителния стрес върху наследствените структури на дрождите. Ниските температури повишават нивото на транспозиция на *Ty1* транспозона. Резултатите ясно показват, че присъствието на криопротектори извън клетките не могат да предотвратят мутагенния ефект на размразяването върху ядрената и митохондриална ДНК.

В монографията има известни неточности изразени по отношение на митотичния кросинговър. На стр. 58, се казва, че между генната рекомбинация, наречена още митотичен кросинговър, води до образуване на реципрочни продукти, а **вътрегенната/не коректно/митотична рекомбинация най често има неречипрочен характер и се нарича генна конверсия?!/Вж. Фиг. 5.27, Генетика на L. Hartwell et al. 2004, където е представена микрофотография на диплоидни дрожди с гените *ade2/ade2* и *ADE2/ade2*. Големината на червеният сектор в резултат на митотична рекомбинация, ако са по-големи секторите това показва, че те са възникнали на по-ранен етап в развитието, колкото са по-малки това означава, че това е станало по-късно. Така че в случая не става дума за Вътрегенна митотична рекомбинация.**

Преди всичко конверсията е събитие, което е свързано с рекомбинацията и репликацията, но не и с мутациите. В резултат на генната конверсия се нарушава паритета между самите алели от 1:1 до 5:3, 3:5, 6:2 или 2:6.

От съществено важно значение са проучванията на д-р Т. Тодорова свързани с увреждащото действие на физични /В4.4/ и химични фактори /В4.2, В4.3, В4.5, В4.7 и фактори от околната среда в това число и природни продукти от растителен произход /В4.6, В4.8, Г7.9/. Интерес представляват данните от проучването на една моделна система от космополити на видове от *Chlorella* / В4.4/. Чрез проучване на два екстремофилни щамове *C. vulgaris* /8/1 и *C. vulgaris* Antartic/ и един мезофилен вид *Chlorella kessleri*, д-р Т. Тодорова представя убедителни данни относно температурен и UV индуциран стрес. Проучването на генотипната устойчивост на 3 различни хабитата от *Chlorella*- *Chlorella vulgaris* Antartic, *Chlorella vulgaris* 8/1 и *Chlorella kessleri*, има важно значение за предсказване на промените в глобалните климатични изменения, както и за проучване на механизмите включени при формирането на клетъчната устойчивост на стрес. В резултат на изследванията с едноклетъчни зелени водорасли от род *Chlorella* изолирани от различни местообитания с различни екстремни условия на живот, се

оказва че притежават ефективни клетъчни механизми за защита. Приносите с методичен характер на д-р Т. Тодорова преди всичко са свързани с измерването на честотата на двойноверижните разриви в ДНК след UV облъчване, установени чрез CFGE/Електрофореза в постоянно електрично поле/. На базата на получените експериментални данни е установено, че двата екстемофилни вида на *Chlorella vulgaris* и мезофилния вид се подреждат във следния ред:

Chlorella vulgaris Antarctic > *Chlorella vulgaris* 8/1 > *Chlorella kessleri*

В публикацията /B4.4/ на Т. Тодорова и съавтори, убедително представят експериментални доказателства участващи при формирането на генотипната устойчивост на представителите на род *Chlorella*. Нещо повече експерименталните данни представляват определен принос относно хипотезата за функционалните свойства на HSP70B за термотолерантността при растителните видове и използването им като бързи био маркери "early-warning". Наред с това приносите с потвърдителен характер каквито има в тази статия, също имат своето значение, тъй като те в известна степен допълват и разширяват научното познание относно действието на UV-B при индуциране на ДБР.

Убедително са представени данните след задълбочени експериментали доказателства в група от статии /B4.3, B4.5, B4.6, B4.7, Г7.8, Г7-9/, където в детайли се проучват генотоксичните/антигенотоксични/, мутагенни/антимутагенни/, канцерогенни/антиканцерогенни/ ефекти и оксидативния стрес и процеси върху моделна система от *S. cerevisiae*. Авторите привеждат убедителни доказателствени данни за влиянието на екстракти от *Amorpha fruticosa* /плод/, *Ailanthus altissima*, methanol върху *S. cerevisiae*. И трите екстракта не показват никаква генотоксичност, мутагенен и карциногенен ефект на клетки от *S. cerevisiae*. По отношение на техния протектиращ ефект те се подреждат по следния начин: AF /*A. fruticosa*/ > RAEM /хексан/ > ААЕН/метанол/. За проучването на оксидативния стрес на Menadione, авторите използват CFGE /Constant field gel electrophoresis/, за отчитане на ДБР на *S. cerevisiae*. От значение се явява фактът, че тези резултати могат лесно да се екстраполират върху бозайници и в това число човек. В такъв случай тези данни се явяват от съществено значение. Тези проучвания показват, че клетки на *S. cerevisiae*, намиращи се във фаза на покой, са много по-чувствителни на действието на Менандион. Според авторите най-вероятно това е свързано с ДНК уврежданията и генотоксичното действие на Менандиона и на ROS ефектите/Reactive oxygen species/. От практическа гледна точка от значение, се явяват изследванията на генотоксичността на един от често използваните пестициди – Chlorpyrifos, които е органофосфорен инсектицид и е в състояние да индуцира оксидативен стрес и увреждане на ДНК. За целта авторите използват набор от тест системи от Chlorpyrifos. Това са плъхове, *Myzus persicae*, *Chlamydomonas reinhardtii* и *S. cerevisiae*. При от *Origanum vulgare* ssp. *Hirtum* /Г7.9/, се оказва, че както неговият метанолов екстракт, така и неговата полярна фракция, не показват генотоксично, мутагенно и увреждащо действие на ДНК на клетки от *Ch. reinhardtii*. Поради това се счита, че *O. vulgare*, се явява надежден кандидат, за целите на „Зелените технологии“. Макар, че резултатите са с потвърдителен характер, те са много важни от практическа гледна точка. ЕС забрани инсектицидите от 10.01.2020г.,

това още повече обуславя нуждата от изпитването на различни тест системи, които да дадат ясен отговорна потенциалния токсичен ефект на пестицидите на организмово, клетъчно, субклетъчно и молекулно ниво. Важна информация се представя от авторите в публикация Г7.2, където екстракт /масло/от *Ailanthus altissima*, се явява обещаващ

естествен хербицид. Това има важно значение в борбата със синтетичните пестициди, и още по-важен е самият факт, че няма негативен ефект върху медоносната пчела. Различните вторични метаболити, като алкалоиди, терпеноиди, флавоноиди, намират все по-широка употреба във фармакологията, като анти-ракови, анти-възпълителни процеси. Статията е с висок IF=3.029.

След проведени комплексни микробиологични и молекулярно генетични изследвания, на четири тест системи – различни видове *Chlorella*, *Chlamydomonas reinhardtii*, *Saccharomyces cerevisiae* и нормални и туморни клетъчни линии от бозайници, д-р Т. Тодорова и съавтори, успяха да изяснят ролята на физиологичното състояние, фазите на митотичния цикъл, химическата природа на тесваните вещества. С това се създаде много добра възможност за изясняване на основна част от механизмите обуславящи генотипната и индуцираната устойчивост отразени в публикациите- Г7.1, Г7.4, Г7.7, Г7.8.

Публикацията Г7.1, е сред най-високо импактираните /IF=4,360, и добро цитиране/ и е свързана преди всичко с хипотезата /механизма/ за изясняване на действието на екзогенно приложени природни продукти, кайсиеви ядки и амигдалин- цианогенни гликозиди. За отбелязване е, че екстракти от кайсии и амигдалин, се използват във фармацевтичната индустрия, като инградиенти на фармацията, противовъзпалителни или антимикробни препарати. В традиционната медицина кайсиевите ядки, се използват като лекарство за нарушени дихателни функции, заболявания на кожата и третиране на колоректалния рак. С подобен характер е и публикацията Г7.3. В същност това се явява един от първите фитохимични анализи на кайсиеви ядки /АКЕ/, амигдалин /АМУ/ 3 нови цианогенни гликозиди. При проучванията си, авторите установяват, че ядки от кайсии/АКЕ/ имат по-силен антимутагенен ефект в сравнение амигдалина. В същото време тази работа представлява интерес поради факта, че се явява и първото експериментално доказателство за това, че блеомицина индуцира ретротранспозиция на *Ty1* в *S. cerevisiae*. В публикацията авторите привеждат данни, че кайсиевите ядки АКЕ, притежават по-силен антимутагенен ефект на човешки фибробласти /ВJ/ от блеомицина, за които е установено че се свързва с преимущество към малката бразда на ДНК, в резултат на което предизвиква разриви. Новите данни в това отношение показват, че протекцията на ДНК от АМУ и АКЕ зависи от генетичните събития. АКЕ осигурява значителна протекция срещу блеомицин чрез индуцирана ретротранспозиция на *Ty1* вероятно в резултат на по-големия антиоксидантен потенциал. АМУ показва по-добра протекция срещу блеомицин индуцирайки митотична ген конверсия и реверсни мутации чрез активиране на репариращи ензими. Необходимо е обаче да подчертаем, че са необходими по-нататъшни проучвания, тъй като изследванията в това отношение, не са дифинитивни.

Данните, където най-добре е представено увеличението на репаративния капацитет при комбинираното третиране с екстракти от листа на *Clinopodium vulgare* L., и радиомиметика Zeocin, са представени в научната публикация Г7.8., д-р Т. Тодорова и съавтори експериментират с два щам диплоиден D7ts1, които понася много по-добре

репаративните процеси, отколкото в хаплоидния щам -551. Комбинираното третиране с екстракт от *C. vulgare* L., и Зеоцин в концентрации от 10 – 1000Mg/ml, значително намаляване на двойно верижните разриви на ДНК. Екстракт от листа на *Cl. Vulgare* L и Zeocin, корелира с индуциране на 1,5 пъти по-високи нива на РКВ, което се явява в принос на изказаната хипотеза от авторите за ефекта на ниските дози като инициатор на ДНК репаративните процеси.

Като цяло всички научни публикации са написани на добър разбираем език от което личи добрата езикова подготовка на д-р Т. Тодорова. И все пак в процеса на подготовката на документалната част свързана с оценяване на работата на д-р Т. Тодорова ще си позволяя да поставя някои въпроси като: 1. При кои рекомбинационни събития на error-prone и error free, се формират с по-голяма честота мутации. 2. Считате ли, че митохондрейната ДНК мутира с по-голяма честота и коя е причината за това.

Преподавателска дейност

Д-р Т. Тодорова участва активно в обучението на млади научни кадри. Тази дейност се изразява в: водене на практически занятия със студенти в Биологическия факултет на СУ „Кл. Охридски“ и ръководство на дипломанти. Общата заетост на д-р Т. Тодорова като хонорован преподавател към Катедра Генетика за периода 2016-2021г., възлиза на 360 часа. Д-р Т. Тодорова е била научен ръководител на 5 дипломанта в периода 2016-2021г.

Заклучение

Научната проблематика на д-р Т. Тодорова с ясно очертан профил на научно изследователската си работа, която е основно е насочена към генетично проучване на важни и приоритетни области на съвременната генетика като генотоксичност, мутагенност, канцерогенност и увреждащо действие на ДНК, с което покрива изискванията на направлението по обявения конкурс от Закона за развитие на академичния състав в Р България. В тези изследвания се съзира едно задълбочено проучване на добро професионално ниво с много добра ерудиция и интелект характерни за един съвременен учен и преподавател, с арсенал от методи на молекулярно генетични, микробиологични, биохимично и химично ниво.

Въз основа на цялостната оценка на научно изследователската дейност, както наукометричните показатели, които надхвърлят изискванията на Правилника и реда за

придобиване на научни степени и заемане на академични длъжности в ИБЕИ на БАН /Вж. Справка на д-р Т. Тодорова/, *си позволявам убедено да препоръча на Почитаемия научен съвет на ИБЕИ, да присъди на д-р Теодора Иванова Тодорова научното звание „Доцент“ по „Генетика“ шифър 01.06.06, професионално направление 4.3. Биологически науки, за нуждите на секция „Мутагенеза от околната среда“ към ИБЕИ на БАН.*

Гр. София

18.01.2023г.

Рецензент:

/проф. дбн С. Георгиев/