

РЕЦЕНЗИЯ

от **акад. проф. Иван Георгиев Иванов, дбн,**

на дисертационния труд на проф. д-р Ива Угринова Златкова *„Обща мишена, различни агенти: Фундаменталните уязвимости на туморната клетка като основа за селективно противотуморно действие”*, представен за присъждане на научната степен „Доктор на науките” в Област на висше образование 4. „Природни науки, математика и информатика”, Професионално направление 4.3. Биологически науки, Научна специалност: „Молекулярна биология“

1. Кратки биографични данни

Проф. д-р Ива Угринова е родена на 14.03.1968 г. в гр. София. Тя е възпитаник на Биологическия факултет на СУ „Св. Кл. Охридски“, който завършва през 1992 г. с магистърска степен по „Биотехнология“, специализация „Генно и клетъчно инженерство“. След дипломирането си работи като специалист в ИОСП – БАН (1992-1994) и ИМБ – БАН (1995-1998), а от 1998 г. е докторант в ИМБ „Акад. Р. Цанев“. След придобиване на научната степен „Доктор“ (2002), заема длъжността гл. асистент в ИМБ, а след кратко прекъсване на научната си дейност (2009-2011) се хабилитира като „Доцент“. От 2019 г. е „Професор“ в ИМБ, а през периода 2014 - 2022 г. е негов Директор. След изтичане на втория ѝ мандат (понастоящем) е Зам. Директор на ИМБ. От 2013 г. завежда секция „Структура и функция на хроматина“. По време на своето кариерно развитие е била на специализация (2004-2005 и 2007 г.) в Ecole Normale Supérieure de Lyon – Лион, Франция, а през 2008 г. и гост-професор в същия институт. Тя е автор на 92 научни статии, от които 87 са в списания с ИФ или Импакт ранк фактор. Трудовете ѝ са цитирани досега 2349 пъти.

2. Преглед на дисертационния труд и процедурата по неговата защита

Прегледът на документите свързани със защитата на дисертационния труд са изготвени съгласно изискванията на Закона за развитие на академичния състав в Република България (ЗРАСРБ) и Правилника за неговото приложение. Дисертацията е обсъдена и насочена за защита на разширено заседание на секция „Структура и функция на хроматина“, проведено на 13.07.2026 г.

Дисертацията на проф. Угринова обхваща 281 страници, включва 158 литературни източници и е базирана на 10 научни статии публикувани в периода 2021-2026 г. Тя е структуриран в нетрадиционен за България (но широко прилаган в редица напреднали страни) стил, а именно: След разделите Литературен обзор и Цели и задачи са поместени 10-те научни статии, след което докторантката прави обобщена дискусия и формулира изводите и приносите на своята дисертация. Последната глава от дисертацията е посветена на бъдещите планове и перспективите които докторантката вижда от продължаване на започнатите от нея изследвания.

Дисертацията е разработена с финансовата подкрепа на 7 изследователски проекта, повечето от които са междуведомствени.

3. Оценка на дисертационния труд

Дисертационният труд на проф. Угринова е посветен на търсенето на нови и оптимизацията на съществуващи антитуморни средства, както и на изясняване на техните молекулни механизми на действие. При планиране на своите изследвания тя прилага оригинален и нетрадиционен подход. За разлика от повечето фармакологични изследвания, където водеща роля има химичната структура на веществата, д-р Угринова поставя на първо място биологичните мишени. Нейната логика е следната: Туморната клетка оцелява благодарение на три основни биологични феномена - балансиран редокс потенциал, геномна стабилност и контролирана клетъчна смърт. В дисертацията те се

разглеждат като потенциални таргети за въздействие върху клетъчната хомеостаза, чието нарушаване може да доведе до забавяне на растежа или гибел на туморната клетка. От тази гледна точка химични съединения с различна структура могат да взаимодействат с една и съща мишена, а това неминуемо ще доведе до еднакъв биологичен ефект. В този смисъл тумороцидната активност на химичните съединения се определя не толкова от тяхната химична структура, а от способността им да взаимодействат ефективно със съответната биологична мишена. С други думи, напълно възможно е различни по структура и природа вещества да произведат сходен краен резултат.

В изследванията си проф. Угринова използва както синтетични, така и природни органични съединения, които разделя в три тематични групи: а) фeroцен-съдържащи сулфонамиди; б) хетероциклично-анулирани нафталимиди; в) природни продукти и нано системи базирани на биосъвместими полимери. На тази концепция е посветен литературният обзор, както и цялата структура на дисертацията.

Литературният обзор е написан на точен и разбираем научен език и е базиран на източници, публикувани през последните 1-2 десетилетия. В началото д-р Угринова представя съвременните схващания за молекулните и клетъчни механизми на действие на антитуморните вещества взаимодействащи с тумор-супресора p53, NF-κB (регулатор на апоптозата и терапевтичната резистентност), ДНК увреждащите съединения и др. За по-добро разбиране на материала тя ни запознава и с молекулните механизми на клетъчния цикъл, както и неговите „контролно-пропускателни“ пунктове, механизмите за репарация на ДНК, репликационния стрес, механизмите на адаптация на туморните клетки и др. След представяне на биологични основи на туморната биология отнасяща се до антитуморната терапия, в обзора са описани и някои противотуморни агенти, като специално внимание е отделено на фeroцен-съдържащите съединения, хетероциклично-анулираните нафталимиди, както и на някои растения, гъби и животински (от морски молюски) протеини. Накрая са разгледани и системите за доставка на антитуморни вещества базирани на биосъвместими полимери.

Задълбоченият анализ на литературата е позволило на кандидатката да намери своята ниша в една изключително конкурентна среда и да формулира **Целите и задачите** на своята дисертация. Както вече беше казано, целта е да се идентифицират и охарактеризират нови антитуморни средства от синтетичен и природен произход насочени към действие с някой от трите дискутирани по-горе биологични таргети, както и да се разработи стратегия за тяхната доставка до туморните клетки. Във връзка с така поставената цел, са формулирани 5 конкретни задачи, които предопределят и хода на проведените изследвания.

Методология. За разработването на дисертацията са използвани разнообразни методи, които биват: *клетъчнобиологични* (култивиране на стабилни туморни клетъчни линии за изпитване действието на противотуморните агенти и изследване на механизма на тяхното действие), *молекулярно-биологични и биохимични* (за изследване на протеини и нуклеинови киселини като маркери за действието на противотуморните вещества), *спектрални, физикохимични, микроскопски* и др.

Резултати. Резултатите от проведените изследвания са описани във всяка от десетте статии представени като копия на оригиналните публикации. Те се отнасят към три тематични групи: фeroцен-съдържащи сулфонамиди (2 статии); хетероциклично-анулирани нафталимиди (2 статии); природни продукти и нано системи базирани на биосъвместими полимери (6 статии).

а) Фeroцен-камфор сулфонамидни

С цел подобряване на противотуморното действие и понижаване на токсичността на антитуморните агенти, през последните години фармацевтите се насочиха към създаване на хибридни съединения, съчетаващи полезните свойства на два или повече фармакофора в една молекула. Такъв е случаят с изследваните от проф. Угринова фе-

роцен съдържащи сулфонамиди. Те съчетават фeroценов фрагмент (с редокс-активни свойства), сулфонамидна група (с бактерицизно действие) и хирален камфорен фрагмент, очаквайки хибридни молекули да индуцират оксидативен стрес, да взаимодействат с базисни клетъчни ензими и да осигуряват взаимодействие с някоя от възловите за оцеляването на туморната клетка биологична мишена. Очаква се тези съединения да променят активността на ключовите клетъчни регулатори като p53 и NF-κB, поради което последните се разглеждат като маркери за действието на новите антиотуморни вещества.

Фероцен-камфор-сулфонамидните съединения са синтезирани в колаборация с колеги химици и фармацевти и след предварителен скрининг са избрани две съединения (DK-164 и CC78) за по-обстойно изследване върху голям панел от разнообразни туморни клетъчни линии. Получените резултати показват, че съединението DK-164 проявява изразена противотуморна активност и висока селективност (за разлика от CC78) срещу рак на гърдата и недребноклетъчен белодробен карцином. Изследванията показват също, че противотуморният ефект на DK-164 е свързан с индуциране на оксидативен стрес, активиране на p53-зависимите сигнални пътища, модулиране на NF-κB сигнализацията, клетъчен арест и причиняване на апоптоза. Тъй като съединението DK-164 има ниска водоразтворимост, д-р Угринова прави опит да подобри неговата бионаличност чрез включването му в биоразградими полимерни мицели и установява, че това не води до загуба на биологичната му активност.

б) Хетероциклично-анулирани нафталимиди

Хетероциклично-анулираните нафталимиди взаимодействат директно с ДНК и индуцират репликативен стрес, като по този начин претоварват репарационните системи, нарушават контрола на клетъчния цикъл и активират апоптозата (третата важна ос за гибелта на клетката). Много тумори съществуват в състояние на хроничен проапоптотичен натиск и разчитат на стеснен набор от механизми за преживяемост; затова сравнително слабото допълнително проапоптотично въздействие често е достатъчно да наклони везните към необратима клетъчна смърт. Координатор на трите оси за клетъчната преживяемост е p53. Това е и една от причините при изследване на механизма на действие на новосинтезираните бензодиоксин-анулираните нафталимиди д-р Угринова да включи в своите изследвания мутантни клетъчни линии с различен TP53 статус. При тях цитотоксична активност се проявява при по-ниски дози, а туморна селективност е по-ниска в сравнение с нормалните клетки. Резултатите показват, че някои производни (бензодиоксин- и бензофуран- съдържащи нафталимиди) индуцират репликационен стрес, потискат синтеза на ДНК и активират апоптоза. Като цяло, клетъчният отговор към тези съединения зависи от TP53 статуса, като p53-компетентните клетки реагират предимно чрез G1 арест, а p53-дефицитните клетки – чрез задържане на клетъчния цикъл в G2/M фаза.

в) Природни продукти и полимерни нано системи за биодоставка

Това е най-обемистия раздел на дисертацията, включващ 6 оригинални статии, в които са представени резултатите от изследването на антиотуморната активност на различни продукти от животински, растителен и гъбен произход.

Животинските продукти са представени от хемолимфата на черноморския охлюв *Rapana venosa*, чиято антиотуморна активност е изследвана върху модели на рак на гърдата и белодробен карцином. Неговата хемолимфа е богата на мед-съдържащите хемоцианини, които са известни със своята имуностимулираща и антиотуморна активност. Литературните данни сочат, че както холопротеините, така и техни структурни субединици проявяват различни биологични активности. В сътрудничество с колеги от ИОХЦФХ проф. Угринова изследва отделни хемолимфни фракции (а не чисти хемоцианини) и по-конкретно фракцията HRv 50–100 kDa от *Rapana venosa*. Настоящите изследвания, които са продължение на други пионерни изследвания на Угринова

и сътрудници върху антитуморния ефект на хемолимфата на *Rapana venosa* показват, че отделни нейни субфракции проявяват селективна антипролиферативна активност и потенцират ефекта на цисплатин при клетъчни модели на рак на гърдата. Тя доказва, че антитуморният ефект на фракция HRv 50–100 kDa се дължи на индуциран оксидативен стрес, автофагия и активация на p53.

Природните продукти от растителен произход са едни от най-старите антитуморни агенти. Според справката на кандидатката, за периода 1981–2019 г. около 50% от одобрените нови лекарства срещу рак са базирани на природни съединения. Лично тя проявява интерес към канабидиола (CBD), екстракти от български гъби, включително червена мухоморка (*Amanita muscaria*) и извлеци от клонките на тропическото растение (*Croton lechleri*).

Проф. Угринова доказва, че CBD проявява противотуморна активност в клетъчен модел на белодробен карцином индуцирайки стрес и клетъчна смърт, като типът на клетъчната смърт (апоптоза или некроза) зависи от p53 статуса на клетките. Действието на гъбните екстракти също зависи от клетъчния тип, но като цяло те имат нисък антипролиферативен потенциал, а ефектът им е свързан с повлияване на пролиферацията на туморните клетки. Алкохолните екстракти от *Croton lechleri* пък проявяват селективна цитотоксичност спрямо меланомни клетки и индуцират апоптоза при минимално засягане на здравите клетки. Тя изследва и ефекта на водно-алкохолни екстракти от червена мухоморка върху белодробни клетъчни линии и намира, че те проявяват изразена цитотоксичност и срещу двата използвани туморни модела, включително p53 дефицитните H1299 клетки. Тук активните вещества остават неидентифицирани.

Отчитайки основните фармакологични недостатъци на противотуморните вещества (ниска водна разтворимост, недостатъчна стабилност, кратък полуживот и неспецифична токсичност), проф. Угринова търси и намира сътрудничество с други свои колеги в областта на химията и фармацията за разработване на по-надеждни системи за доставка до туморните клетки. Тя се насочва към полимерните самосглобяващи се мицели съставени от амфифилни блок-съполимери, състоящи се от хидрофобно ядро и хидрофилна корона. Така са създадени PEO-b-P(SuCL-co CL)-b-PEO триблок-съполимерни мицели за капсулиране на фероценовото съединение DK-164, които демонстрират висока ефективност на капсулиране (~98%), контролирано освобождаване и запазена биологична активност спрямо свободното съединение. В друга работа се описва разработването на нови pH-чувствителни нано-носители чрез модифициране на конвенционални ниозоми с хексадецил-поли(акрилова киселина)_n съполимери (HD-PAAn). Тези системи са използвани за захващане на куркумин (83%) и последващо pH-зависимо освобождаване на лекарството. Постигната е подобрена цитотоксична и апоптогенна активност в сравнение със свободния куркумин.

4. Изводи и приноси

Изследванията на проф. И. Угринова имат научно-фундаментален и научно-приложен характер и въз основа на тях са формулирани 15 извода. Получените резултати потвърждават нейната работна хипотеза, че различни по произход и химична структура съединения могат да проявяват антитуморна активност въздействайки върху малък брой фундаментални клетъчни уязвимости, които са свързани с клетъчната оксиредукционна хомеостаза, геномната стабилност и механизмите за клетъчно оцеляване. Резултатите показват също, че противотуморната активност на много вещества се запазва и при клетки с нарушена p53 функция, което е указание за съществуването на алтернативни p53-независими механизми за индуциране на клетъчна смърт. Д-р Угринова доказва, че туморната селективност може да служи като индикатор за уязвимост-насочено действие на изпитваното вещество. Тя със своя екип изследва за

първи път противотуморния ефект на хетероциклично-анулирани бензодиоксин- и бензофуранови нафталимиди и показва, че той е свързан с индуциране на репликативен стрес, активиране на DDR сигналната система и последващата апоптоза. Тя доказва за първи път антитуморна активност на хемолимфни фракции от *Rapana venosa* и установява хемосенсибилизиращата им активност спрямо цисплатин. Получени са нови данни и за противотуморна активност на природни продукти от растителен и гъбен произход, включително канабидиол, екстракти от *Croton lechleri* и *Amanita muscaria*. Техните ефекти са свързани с индуциране на оксидативен стрес и програмирана клетъчна смърт. Към постиженията с приложен характер следва да се отнесе създаването и охарактеризирането на нови биоразградими полимерни наносистеми за доставка на антитуморни вещества до туморните клетки.

5. Публикации свързани с дисертационния труд

Във връзка с дисертацията на проф. И. Угринова са публикувани 10 научни статии публикувани през последните 5 години, в 9 от които тя е водещ/кореспондиращ автор. 8 от тях са в квантил Q1, а останалите съответно в Q3 и Q4. Общият ИФ на десетте статии е 48.9, а забелязаните цитати са 87. Резултатите от дисертацията са докладвани и на 20 национални и международни научни форуми.

6. Лично участие на кандидата

Фактът, че проф. Угринова е водещ/кореспондиращ автор в 9 от 10-те научни публикации, както и в повечето от проектите свързани с нейната дисертация, е доказателство за това, че преобладаващата част от постиженията на дисертационния труд са нейно лично дело на кандедата, макар че неговата реализация не би била възможна без сътрудничеството на нейните партньори от ИМБ и други научни организации.

7. Обобщена оценка

Обобщената оценка съгласно ЗРАСРБ за научната степен „Доктор на науките“ в област на висше образование 4. „Природни науки, математика и информатика“ е представена на следната таблица.

Показател	Изискуем минимум	Реален брой точки
А	50	50
Б	100	100
Г	100	227
Д	100	174
Общо	350	551

Както се вижда от представените данни, наукометричните показатели на проф. Ива Угринова свързани с нейния дисертационен труд превишават значително официално приетите съгласно сега действащия ЗРАСРБ.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Дисертационният труд на проф. Ива Угринова Златкова озаглавен „Обща мишена, различни агенти: Фундаменталните уязвимости на туморната клетка като основа за селективно противотуморно действие“ е посветен на търсенето на нови вещества с антитуморно действие и изясняване на техните механизми на действие. За целта тя прилага оригинален подход основан на способността на противотуморните вещества да въздействат върху ключови за преживяемостта на туморната клетка системи, каквито са

окси-редукционната хомеостаза, геномната стабилност и апоптозата. Концепцията, че съединения с различна химична структура могат да дадат еднакъв биологичен ефект, ѝ дава основание да направи своя скрининг както измежду синтетичните, така и сред природните биологично активни вещества. В резултат на това тя открива нови вещества с изразен противотуморен ефект както измежду фeroцен-камфор сулфонамидите и хибридните хетероциклично-анулирани нафталимиди, така и в хемолимфата на морския охлюв *Rapana venosa* и водно-алкохолните екстракти на растения (*Croton lechleri*) и гъби (*Amanita muscaria*). С това тя обогатява базата данни на кандидат терапевтичните средства за онкологията и доказва верността на своята работна хипотеза за скрининг и механизъм на действие на веществата с антитуморно действие. Тя разработва и оригинална наносистема за по-ефективна доставка на антитуморни вещества в раковите клетки базирана на самоорганизиращи се биоразградими полимери.

Във връзка с дисертационния труд са публикувани 10 научни статии (8 в списания с Q1, и 10-те работи са от последните 5 години) в 9 от които кандидатката е водещ автор. Резултатите от дисертацията са докладвани и на 22 национални и международни научни форуми. Със своя дисертационен труд и научната продукция проф. Угринова се представя като утвърден, авторитетен и високо уважаван у нас и в чужбина изследовател в областта на молекулярната биология. Нейните наукометрични показатели превишават значително официално изискуемите от ЗРАСРБ за придобиване на научната степен „Доктор на науките” в Област на висше образование 4. „Природни науки, математика и информатика”, Професионално направление 4.3. Биологически науки, Научна специалност: „Молекулярна биология“, което ми дава основание убедено да препоръчам на уважаемото Научно жури определено да проведе защитата на нейния дисертационен труд, да ѝ я присъди.

10.07.2026 г.

Рецензент:

/Акад. Иван Г. Иванов/