

РЕЦЕНЗИЯ

от проф. д-р Рени Емил Калфин, Ръководител на Научно направление „Биологични ефекти на природни и синтетични вещества“ при Институт по невробиология - БАН

върху дисертационен труд за присъждане на образователната и научна степен „Доктор“

Професионално направление 4.3. „Биологически науки“
Докторска програма „Морфология“ (01.06.26)

Автор: Магистър Здравка Димитрова Петрова

Форма на докторантурата: Редовна докторантурата

Секция: „Патология“ на Институт по експериментална морфология, патология и антропология с музей - БАН

Тема: „Антитуморна активност на комплекси на Ru(II)(III) с шифови бази при постоянни и първични туморни клетъчни култури“

Научен ръководител:

Професор Радостина Ивайлова Александрова, доктор – ИЕМПАМ-БАН

1. Актуалност на тематиката

Представеният ми за рецензиране дисертационен труд на редовен докторант Здравка Димитрова Петрова е посветен на важен проблем в съвременната медико-биологична наука – търсене на нови средства с висока антитуморна активност, селективност и добра биологична поносимост. Независимо от големия напредък в лечението и диагностиката на злокачествените новообразувания, те продължават да бъдат един от основните проблеми не само пред медицинските и научни съсловия, но и пред цялото общество. Достатъчно е да споменем непрекъснато увеличаващата се честота на раковите заболявания в световен мащаб. През 2020 г. са установени приблизително 18,1 miliona случая на рак в света, като от тях 9,3 miliona са при мъже и 8,8 miliona при жени. Основна причина за неуспеха на лечението на злокачествените новообразувания продължава да бъде мултилекарствената резистентност и донякъде нежеланите странични ефекти на химиотерапията, което обосновава усилията на учените в посока синтезиране, характеризиране, изследване и приложение на нови съединения с потенциални антитуморни свойства. Добре известно е, че химиотерапията с платина е ефективен метод за лечение на онкологични заболявания. Медикаменти на основата на платина (цисплатина, оксалиплатина и карбоплатина) се използват рутинно - самостоятелно или в комбинация с други

препарати, за лечение на различни злокачествени заболявания. Съединенията на рутения, които са обект за изследване в настоящия дисертационен труд, притежават редица предимства пред платиновите препарати, сред които по-ниска токсичност и по-слабо изразена способност да предизвикват устойчивост в туморните клетки. Всичко това прави темата на дисертационния труд актуална в научно и научно-приложно отношение и обосновава необходимостта от проведените изследвания.

2. Познаване на проблема

От направената обширна литературна справка се вижда, че Здравка Петрова е отлично запозната със състоянието на изследвания проблем, обект на нейния дисертационен труд. Литературният обзор е изключително богат и съвременен, състои се от девет раздела, онагледен е с 14 фигури и 7 таблици. Докторантката много добре представя епидемиологията на онкологичните заболявания и туморната хетерогентност. Заслужено внимание тя обръща на персонализираната медицина, която води до значително по-малък брой нежелани странични реакции, намален брой хоспитализации и избягване на ненужни инвазивни процедури. Възможността да се тества директно върху тумора на конкретен пациент представлява голяма стъпка към персонализиран подход в медицинската онкология. Биологичната роля на рутения и неговите комплекси са разгледани подробно в литературния обзор. От това описание стават ясни широките, все още неизползвани възможности за създаване на нови метални комплекси с надежда за по-изразено антитуморно действие.

Литературният обзор е интересно и атрактивно четиво, говори за автор със знания и капацитет, който ясно разбира направеното до момента и перспективите в бъдеще. Като цяло литературният обзор представлява постижение на автора и показва задълбочено познаване на научната литература и научните проблеми, свързани с разработваната тема.

3. Методика на изследването

В дисертационния си труд Здравка изследва влиянието на 8 комплекса на Ru(III) и техен предшественик с Ru(II) върху преживяемостта и пролиферативната активност на клетки от различни хистологични типове тумори при човек, предизвиканите в тях цитоморфологични изменения и типа на клетъчната смърт. Синтезът и физико-химичната характеристика на изследваните метални комплекси са извършени от д-р Даниела Кулица и д-р Габриела Маринеску в Института по физикохимия «Илие Мургулеску», Букурещ, Румъния.

Като база за сравнение на активността са използвани утвърдени химиотерапевтици (цисплатина, оксалиплатина, епирубицин, паклитаксел), тъй като новосинтезираните съединения на рутений с шифови бази са метални комплекси, а платината е единственият метал, навлязъл в онкологичната практика и неговите съединения (цисплатина и оксалиплатина) са едни от най-често използваните медикаменти при лечение на онкологични заболявания. От друга страна епирубицинът и платиновите препарати имат различен механизъм на действие - той е антрациклинов противотуморен антибиотик, докато цисплатината и оксалиплатината са алкилиращи агенти.

Едно от основните изисквания към антитуморните препарати е действието им да е насочено към злокачествено трансформираните, а не към нормалните клетки на организма. Ето защо докторантката включва в експериментите си две нетуморни линии от човешки клетки: MCF10, изолирана от нормален паренхим на млечна жлеза и Lep3, получена от ембрионални белодробни фибробласти.

Отлично впечатление прави използването от докторантката на получени от тумори на пациенти първични клетъчни култури, които представляват пряка реализация на идеята за персонализирана медицина в онкологичната практика.

Здравка Петрова е доказала уменията си за работа с клетъчни култури, придобити под ръководството на проф. Радостина Александрова. Като моделни системи при провеждане на експериментите са използвани клетъчни линии, получени от някои от най-често срещаните неоплазии при човек и една линия на трансплантируем сарком у плъх, предизвикан с Rous sarcoma virus, получена от доц. Ивайло Александров, която се поддържа в ИЕМПАМ-БАН от колектива на проф. Радостина Александрова.

Влиянието на изследваните вещества върху клетъчната преживяемост е проучвано с различни методи (MTT тест, оцветяване с кристалвиолет, тест за цитотоксичност с поглъщане на неутрално червено). Пролиферативната активност на третирани клетки е определяна чрез експресията на ядрения белък Ki67. Проучена е възможността на новосинтезираните метални съединения да предизвикат автофагия. Изследвана е клетъчната морфорогия, проучена е също способността на комплексите на рутения да предизвикват двойноверижни скъсвания в ДНК молекулите, идентифициран е типа на клетъчната смърт – апоптоза или некроза и е проследено влиянието на новосинтезираните вещества върху способността на туморните клетки да образуват триизмерни колонии в полутечна среда.

В заключение в дисертационния труд са използвани съвременни методи, като отлично впечатление прави както голямото им разнообразие, така също

адекватното описание, позволяващо те да бъдат повторени. Използваните методи вдъхват надеждност и убеждават читателя в получените резултати.

4. Характеристика на дисертационния труд и оценка на приносите

Дисертационният труд е отлично написан – интелигентно и с много знания, изключително богато онагледен със 106 цветни фигури и 36 таблици, увлекателен е за четене. Дисертацията е написана на 254 страници по стандартната схема и включва всички раздели за един такъв труд. Цитирани са широк кръг чуждестранни автори, общо 251 на брой, при това със съвременни разработки. Трудът е написан на отличен български език, което за съжаление вече не се среща в съвременните дисертации, и с минимално използване на чуждици.

Поставените задачи са 7 на брой и отговарят на целта на дисертационния труд да се изследва влиянието на новосинтезирани комплекси на рутения с Шифови бази върху преживяемостта и пролиферативната активност на култивирани в лабораторни условия постоянни клетъчни линии и първични туморни култури и предизвиканите в тях цитопатологични промени.

Получените експериментални данни са многобройни и значението им тепърва ще нараства. Препоръката ми е те да бъдат обобщени в научни статии и изпратени за публикуване в списания с висок импакт-фактор, защото заслужават да станат достъпни до международната научна общност.

Обсъждането на експерименталните резултати отново показва задълбочено и съвременно знание на докторантката относно клетъчна морфология, биохимия, експериментална химиотерапия. Използваната литература е богата, показва задълбоченото познаване на материала, с която Здравка Петрова работи.

Всичко казано по-горе е доказателство за големия обем на материала, обработен и описан детайлно от Здравка, което ми дава основание да дам висока оценка на уменията на автора под ръководството на проф. Александрова да разглежда получените резултати в контекста на известните факти от литературата, да открива причинно-следствените връзки между изследваните параметри и да формулира точно изводите си, като значително надхвърля очакваното за докторант ниво.

Приемам приносите. Те са реални и точно формулирани. Адмирирам факта, че докторантката със съдействието на научния си ръководител е насочила своите усилия резултатите от изследванията в дисертационния труд да бъдат реално ориентирани към лечението на пациентите, като например оптимизиране на метода за получаване и имуноцитохимично фенотипизиране на първични култури от рак на млечна жлеза при човек, който метод дава възможност за предварително изпитване на чувствителността на тумора към химиотерапевтични

препарати и е от особено значение при пациенти с туморни рецидиви, възникнали след предходно лечение. Достъпността и възможността за диагностично приложение на използваната в дисертационния труд методика за имунохистохимична верификация на экспресията на тъканни биомаркери би допринесла за приложението на концепцията за туморни стволови клетки в клиничната практика. Оригинален научен принос със съществено практическо значение е установената обещаващата антитуморна активност на комплексите RuSalpn и RuValdiamci при клетки от тройно негативен рак на гърдата и остеосарком при човек, за които наличните в момента терапевтични възможности са крайно ограничени.

В заключение това е един много качествен, трудоемък, с използване на многобройни експериментални методи дисертационен труд, който заслужава уважение.

5. Наукометрични данни на докторанта

Изпълнението на образователната и научна програма на докторантите в Българска академия на науките се оценява въз основа на кредитна система. За докторанти, зачислени преди 1 януари 2019 г., какъвто е случаят със Здравка Петрова, се изискват минимум 130 точки от изпълнение на образователната програма, 40 точки от докладвания на научните резултати и 80 точки от публикации по темата на дисертационния труд, тоест сумарно 250 кредитни точки.

От приложената справка е видно, че Здравка Петрова събира 170 точки при изпълнение на образователната програма, 544 точки от представени съобщения на научни форуми и 276 точки от публикации. Сумарно тя има 990 кредитни точки, които четири пъти надвишават изискуемия минимум от 250 точки съобразно Правилника за обучение на докторанти в БАН.

6. Автореферат

Авторефератът е написан на 81 стандартни страници и напълно съответства на съдържанието на дисертационния труд. От автореферата може да се добие представа за направеното научно изследване. Оформен е много добре. Включени са всички основни за дисертационния труд резултати, техният анализ и обсъждане. Както самата дисертация, така също авторефератът е богато онагледен със снимки, таблици и графики. Авторефератът отразява собствените изследвания и обсъждания, обобщава ги много добре и логично води до изводите и приносите.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Представеният за защита дисертационен труд на тема: „Антитуморна активност на комплекси на Ru(II)(III) с шифрови бази при постоянни и първични туморни клетъчни култури“ съдържа оригинални научни и научно-приложни резултати, които са популяризираны чрез многообразни съобщения на научни форуми и в три добре оформени научни статии. Разработеният дисертационен труд е комплексно, трудоемко и пространно проучване върху изключително актуален проблем на експерименталната онкология и онкофармакология. Получени са оригинални данни, които имат не само научна стойност, но представляват интерес за диагностичната и лечебна медицинска практика.

Дисертационният труд показва, че докторантката Здравка Петрова притежава задълбочени теоретични знания и професионални умения по научната специалност „Морфология“, като демонстрира качества и умения за самостоятелно провеждане на научно изследване. Представените резултати и научни публикации във връзка с дисертационния труд надхвърлят изискванията, отразени в Правилника за условията и реда за придобиване на научни степени и заемане на академични длъжности в Института по експериментална морфология, патология и антропология с музей при БАН и са в съответствие с изискванията на Закона за развитие на академичния състав в Република България и Правилника за неговото приложение. Резултатите от изследването внасят ценен оригинален научно-приложен принос за изясняване механизмите, обуславящи антитуморната активност на рутения и неговите метални комплекси.

Предвид гореизложеното, давам изцяло **позитивна оценка** за проведеното научно изследване, представено от рецензираните по-горе дисертационен труд, автореферат, постигнати резултати и приноси, и ще гласувам положително в качеството ми на член на Научното жури за присъждане на **образователната и научна степен ‘доктор’** на Здравка Димитрова Петрова по научната специалност „Морфология“ в професионално направление 4.3. „Биологически науки“.

23 февруари 2023 г.

Изготвил рецензията:


Проф. д-р Рени Калфин