

**НАВНИМАНИЕТО НА ЧЛЕНОВЕТЕ
НА НАУЧНОТО ЖУРИ
СЪГЛАСНО ЗАПОВЕД № РД15-19 НА
ДИРЕКТОРА НА ИНСТИТУТА ПО
ЕКСПЕРИМЕНТАЛНА МОРФОЛОГИЯ,
ПАТОЛОГИЯ И АНТРОПОЛОГИЯ
С МУЗЕЙ ПРИ БАН, СОФИЯ**

БЪЛГАРСКА АКАДЕМИЯ НА НАУКИТЕ	
И-Т ПО ЕКСПЕРИМЕНТАЛНА МОРФОЛОГИЯ, ПАТОЛОГИЯ И АНТРОПОЛОГИЯ С МУЗЕЙ	
Вх. №	179
	02.04
	2018 г.
СОФИЯ	

РЕЦЕНЗИЯ

На дисертационния труд на **ТАНЯ ДАНЧЕВА ЖИВКОВА** за присъждане на образователната и научна степен „ДОКТОР“ в област на висше образование 4. Природни науки, математика и информатика, професионално направление 4.3. Биологически науки, по научна специалност Морфология / шифър 01.06.26/

На тема: **Влияние на комплекси на метали с различни лиганди върху преживяемостта и пролиферативната активност на туморни клетки**

С научен ръководител: Доц. Радостина Александрова, доктор

от Проф. д-р Радка Младенова Аргирова, дмн, вирусолог, Аджъбадем СитиКлиник Болница „Токуда“ - София, Клинична Лаборатория, сектор „Имунология и молекулярна диагностика“

Уважаеми членове на научното жури,

Таня Живкова е родена през 1985 г. в София. Завършила е 31 СУЧЕМ «Иван Вазов» през 2004 г. в паралелка с интензивно изучаване на френски език. През 2008 г. завършва като бакалавър Биологическия Факултет на СУ«Св.Кл.Охридски» по специалността молекулярна биология, а през 2010 г – завършва магистратура по вирусология в същия Факултет. От 2013 г. е редовен докторант в ИЕМПАМ към БАН. Владее френски, английски и руски език, участва активно и заедно с научния си ръководител в научно-организационния живот на Института. Научният и ръководител има дългогодишен опит и експериментални интереси в областта на експерименталното приложение на метал-съдържащи

съединения срещу пролиферацията на туморни клетки от различен произход. Очевидно, това е повлияло на Тания Живкова при избора не само на темата на дисертационния си труд, но и на методите и подходите за реализирането му.

Актуалността на избраната тема е без съмнение – злокачествените новообразувания днес заемат съществено място сред причините за смърт, а се очаква смъртните случаи от тях да нарастнат, например у нас с още 60-70% към 2030 г., ако не се предприемат сериозни диагностични, терапевтични, а и профилактични действия. Често те протичат като че ли «тихо», но винаги с драматичен ход, и въпреки съвременните терапевтични протоколи, най-често са с фатален край. Широко разпространеното използване на редица новосинтезирани съединения, вкл. комплекси на метали с различни лиганди е сред сравнително новите подходи за лечение, въпреки, че благоприятното действие на златото, среброто и др. са известни още от древността.

Настоящият труд е реален принос в това отношение, комплексите на цинк, злато, сребро и др. с шифови бази и йонофорния антибиотик монензин са изследвани в клетъчна култура - задължителна стъпка преди въвеждането и утвърждаването на всяко ново антитуморно лекарствено средство.

Литературният обзор е изключително богат и съвременен. Най-подробно са осветени постиженията на науката по отношение класификацията на туморите, механизмите на избягване от имунния отговор, генетичните, енергетичните, растежно-репаративните и регулаторни особености на клетъчно и субклетъчно ниво. Докторантката е много добре запозната и със схемите на съвременното лечение, откъдето стават ясни и проблемите на това лечение – нежелани лекарствени реакции, множествена лекарствена резистентност, хетерогенност, трудност/невъзможност за преодоляване на физиологичните бариери и др., чиито механизми са отлично разгледани. Най-детайлно е описана антитуморната активност на редица метали, както и биологично известните действия на шифовите бази и монензина. От това описание стават ясни широките все още неизползвани възможности за създаване на нови съединения с надежда за по-изразено антитуморно действие. Обзорът заема 50 стр., т.е. една четвърт от обема на целия дисертационен труд. Той говори за автор със знания и капацитет, ясно разбиращ направеното до момента и перспективите в бъдеще и представлява интересно и атрактивно четиво, съответстващо на заглавието на труда. Цитирани са широк кръг български и чуждестранни автори, общо 298, при това с най-съвременни разработки. Целта е ясно формулирана, задачите са детайлно описани, към този раздел нямам забележки.

Главата «Материали и методи» е написана отлично – ясни са новосинтезираните съединения, използваните като положителни контроли съединения. Използваните експериментални методи са успешно съчетание от класически /клетъчно култивиране, МТТ- тест и две допълнителни оцветявания/, и по-съвременни / кометен тест – две разновидности, определяне типа на клетъчната смърт/. Експерименталните протоколи са ясно описани, възможно е да бъдат повторени, вдъхват надеждност и убеждават в получените резултати. Изследвани са общо 12 новосинтезирани съединения - 6 комплекса на цинк/сребро и цинк/злато с лиганд шифова база, като два от лигандите – Salampy и Saldmen не са били получени като самостоятелни стабилни съединения, както и 6 комплекса на Mg(II), Ca(II), Mn(II), Co(II), Ni(II) и Zn(II) с монензин. Цисплатина е използвана като положителна контрола. Като експериментални модели на клетъчна култура са използвани: добре охарактеризирани туморни клетъчни линии с висока степен на злокачественост от човешки произход, клетъчна линия A431 от човешки произход и нейни субклонове с множествена лекарствена резистентност, две клетъчни ретровирус-трансформирани линии /от плъши и пилешки произход/, чиито клетки експресират съответно онкогените *v-src* и *v-myc* и нетуморни ембрионални клетки от бял дроб на човек. Приложена е и подходяща статистическа обработка на получените резултати. Всичко това дава възможност за получаване и публикуване на надеждни и възпроизводими резултати.

Главата «Резултати и обсъждане» е главната и най-важна част от собствените изследвания на докторантката. В главата има отделни части, представящи експерименталните изследвания на комплекси с шифовите бази и такива на монензина, поотделно с краткосрочни и дългосрочни изпитвания. На Табл. 44 е показано, че активността на изследваните метални комплекси от двете групи превъзхожда тази на положителната контрола цисплатина. С най-силно изразено цитотоксично действие са комплексите CaMon (A549) и ZnSalenAu, ZnSalampyAu и ZnSaldmenAu (при останалите клетъчни линии). Убедително е показано /Фиг.24, Табл.16/, че клетъчната преживяемост при плъшите саркомни клетки (LSR-SF-SR) намалява значително още на 3-6-ия час след третирането с комплекси на цинк и злато, както и цинк и сребро с шифови бази ;в същия срок кометният тест при алкално рН доказва наличие на едноверижни скъсвания в ДНК на клетките. Доказана е и липса на обратимост на ефекта на изпитваните съединения чрез потискане способността на раковите клетки да образуват 3D колонии в полутечна среда. Що се отнася до монензина, демонстрирано е, че неговите комплекси с метали са по-активни от самостоятелно приложения монензин. Показана е добра

съпоставимост между резултатите, получени с 3 различни теста за клетъчна преживяемост – МТТ, неутрал рот и кристалвиолет. Резултатите от кометния тест добре корелират с данните за клетъчната преживяемост. Особено ми допадат т.нар. от докторантката „дългосрочни“ експерименти, показващи продължителността на антитуморното действие на изследваните комплекси и често наблюдаващото се „избягване“ от цитотоксичното действие на отделни клетки - вероятно начало на рецидиви и метастази. Обяснено е как клетъчно-специфичният отговор, свързан с особености на всяка от моделните клетъчни линии, може да се отрази върху различното въздействие на изследваните вещества. Връзката „структура – биологична активност“ и механизъм на действие са само частично описани и в границите на експерименталните данни в дисертационния труд. Предполагам, че иерархичните редове за всяка клетъчна линия поотделно и за всяко съединение ще бъдат основата за следващи заключения по тези важни въпроси.

Спирам се само на част от експерименталните резултати, тъй като последните са много и научно-приложното им значение ще нараства. Обсъждането на експерименталните резултати отново показва задълбочено и съвременно знание на клетъчна морфология, биохимия, експериментална химиотерапия. Изводите отразяват експерименталните резултати, напълно съм съгласна с тях. Използваната литература е богата, показва задълбоченото познаване на материята, с която докторантката борава. Приносите са реални, точно формулирани, уверена съм, че научно-приложните действително ще намерят приложение в експерименталната онкология.

Авторефератът отразява собствените изследвания и обсъждания, обобщава ги отлично и логично води до изводите и приносите.

Дисертационният труд е написан ясно, с прецизно боравене с терминологията, докторантката се е научила и успешно използва редица важни методи – клетъчно култивиране, биохимични и морфологични тестове, прекрасни фотографии украсяват и документират доказателствения материал, умело се справя със статистическите методи. Таблиците и фигурите са ясни и прецизни. Най-ценното в тази дисертация са богатите експериментални резултати, съчетани с умението те да се интерпретират, опирайки се на солидни съвременни знания. При завършване четенето на дисертационния труд читателят остава с впечатлението, че този труд не е завършен. Това е защото трудът дава широка перспектива за бъдещи изследвания в няколко обещаващи насоки. Тук е мястото да поздравя и научния ръководител на докторантката, която освен доказан учен-експериментатор е и с дългогодишен опит в ръководството на докторанти и изграждането на млади учени.

Публикационната активност на докторантката е впечатляваща – тя представя 2 публикации на англ. език с IF – съответно 1.329 и 0.379, като едната – от 2012 г. вече е цитирана 4 пъти, а тази от 2013 г – 1 път. Освен това са публикувани и 2 доклада в пълен текст в България и един доклад в пълен текст в сборник материали от конференция в чужбина. Специално отбелязвам активността на докторантката при провеждане на научни мероприятия в България и чужбина. Изследванията в дисертационния труд на Таня Живкова са подкрепени от участието ѝ в 10 научно-изследователски проекти, финансирани от НФНИ, Европейска Програма COST, двустранно сътрудничество между БАН и Румънската Академия на науките.

В заключение, богатата експериментална дисертация-разработка на Таня Живкова заслужава най-висока оценка поради значимите научни и иновативни резултати, публикувани и вече цитирани в международни научни издания и говори за компетентен колега и учен, който сам може да инициира научно-изследователските задачи и да ги интерпретира, тъй като е усвоила широк набор от съвременни експериментални методи, особено в областта на експерименталната химиотерапия. От дисертационния и труд лъха огромна трудоспособност, капацитет, постоянство в работата, склонност към споделяне на собствения опит, умение за работа в екип.

Ясно е, че Таня Живкова напълно отговаря и в много отношения надхвърля всички критериите на ЗРАКРБ за присъждане на образователната и научна степен „доктор“. Не на последно място подчертавам и потенциала на Таня Живкова за бъдещото развитие на експерименталната химиотерапия у нас чрез участие в целеви научни проекти. Всичко това ме прави дълбоко убедена, че днес нашето жури ще избере нов доктор – продължител на дългогодишната традиция в българската експериментална химиотерапия и работа с комплекси на метали с различни лиганди.



София, 31.03.2018 г.

Изготвил рецензията:
(Проф. д-р Радка Аргирова, дмн)