

БЪЛГАРСКА АКАДЕМИЯ НА НАУКИТЕ  
И-Т ПО ЕКСПЕРИМЕНТАЛНА МОРФОЛОГИЯ,  
ПАТОЛОГИЯ И АНТРОПОЛОГИЯ С МУЗЕЙ  
Вх. № ..... 81 .....  
..... 23.03 ..... 2021 г.  
СОФИЯ

## РЕЦЕНЗИЯ

от доц. Елена Кистанова, доктор по биология, ИБИР-БАН

относно: дисертационния труд на Милена Главчева, редовен докторант на ИЕМПАМ-БАН на тема „**Цитотоксична активност на новосинтезирани метални комплекси с Шифови бази и коджикова киселина и на статини върху туморни клетки**“

за присъждане на образователна и научна степен «доктор» по научна специалност „Морфология“, шифър 01.06.26, професионално направление 4.3. Биологически науки, област на висше образование 4. Природни науки, математика и информатика, с научен ръководител проф. Радостина Ивайлова Александрова

### Представяне на докторанта

Милена Главчева (1969) получава средното си образование в 14 ЕСПУ „Проф. д-р Асен Златаров“ (София) със специализация „Биотехнологии“. Запазвайки интереса си към това направление, през 2006 година тя става ‘бакалавър’ по специалност „Биотехнология“ в Химикотехнологичния и металургичен университет (София). През 2008 г-жа Главчева получава диплом за магистърска степен по ‘клетъчна биология’ в Пловдивския университет “Паисий Хилендарски”, а от 2016 е редовен докторант в секция „Патология” на ИЕМПАМ - БАН, отчислена през 2018 с право на защита.

### Структура и съдържание на дисертационния труд

Представеният за рецензиране труд е на 218 страници и съдържа разделите: Въведение (2 с.), Литературен обзор (82 с.), Цел и задачи (1 с.), Материали и методи (17 с.), Резултати (75 с.), Обсъждане (11 с.), Изводи и приноси (2 с.) и Библиографска справка (18 с.). Дисертационния труд е илюстриран с 87 фигури и 58 таблици. В библиографската справка са посочени 231 публикации, от които 3 на кирилица, останалите на латиница.

### Увод

В увода докторантът разкрива сериозността на онкологичните заболявания. Тъжната статистика на раковите заболявания по света и в България показва необходимост от нови терапевтични подходи, съчетаващи ефективност с минимален риск от странични

токсични последици, което определя актуалността на проведеното изследване. Позитивният опит от лечение с комплексните съединения на някои есенциални метали с различни лиганди, включително Шифови бази, е добра предпоставка за търсене и експериментално изпробване на нови съединения от тази група с по-слаба токсичност и увеличен клетъчен афинитет.

### **Литературен обзор**

На базата на обзор на вече осъществените изследвания в тази област е направена изчерпателна характеристика на туморните клетки и туморогенезата, подробно са описани химичните свойства и биологичната роля на комплексите на Zn, Co, Cu, Ni с Шифови бази и коджикова киселина, както и цитостатичен и цитотоксичен ефект на статини. Докторантката показва дълбоко познаване на проблема и широка ерудиция. Обзорът е илюстриран с подходящи схеми, които го правят по-разбираем, като за всяка схема е надлежно цитиран литературен източник.

Прави впечатление актуалността на направения литературен преглед. Използваната литература е основно от последни десетина години, като са анализирани и публикации от миналата (2020) година (6 броя).

### **Цел и задачи**

Целта на разработката е да се изследва влиянието на новосинтезирани метални [Zn(II), Cu(II), Co(II)] комплекси с Шифови бази и с коджикова киселина, и на статините Ловастатин и Флувастатин върху преживяемостта и пролиферативната активност на култивирани в лабораторни условия туморни клетки. Поставената изследователска цел е формулирана ясно и отразена в заглавието на дисертацията. За реализацията ѝ докторантката набелязва шест научни задачи.

### **Методичен подход**

Изборът на изследователски обекти е добре обоснован от гледна точка на актуалността и иновативността на разработката. Експериментално са изпробвани новосинтезирани метални комплекси върху различни клетъчни линии на най-разпространените в България женски онкологични заболявания – неоплазии на млечната жлеза и карцином на шийката на матката – както и върху уникални туморни линии,

трансформирани с вирус. Свойствата на тези комплекси и начинът на синтезиране са добре описани. За по-висока достоверност на резултатите, оценката на преживяемостта на третираните клетки е направена с помощта на три метода: МТТ тест, оцветяване с кристал виолет (CV) и оцветяване с 'неутрално червено' (NR). Допълнително са използвани методи за оценка на пролиферативната активност, на цитопатологичните изменения в клетки, както и на генотоксичната активност на изследваните съединения. Схемата от използваните методики е представена нагледно на фиг. 49.

### **Резултати и обсъждане**

Експерименталните резултати са получени с комплект от класически и най-нови изследователски методи като конфокална микроскопия, фотоцитометрия и др. Събраните данни са обработени със съответстващи статистически методи. Изложените резултати съответстват на поставените задачи и отразяват фазите в решаването им. Получените резултати са научно убедителни, и са представени нагледно във вид на графични фигури и микроскопски снимки (43 бр.) и таблици (34 бр.). Количеството извършена експериментална работа е впечатляващо. Получените данни са обобщени в табл. 58, която отразява йерархичните редове на активност на приложените субстанции за всеки тип изследвани клетки.

Резултатите от изследването си докторантката коментира, обяснява и съпоставя с резултатите, получени от други изследователи.

### **Изводи и приноси**

Върху основа на резултатите и осмислянето им са направени четири добре обосновани извода, аргументиращи осъществяването на поставената цел.

Ясно са очертани научните приноси на изследването. Това са:

- оригиналните данни за ефекта от новосинтезирани комплекси на Zn(II) и Cu(II) с Шифови бази (8 броя) и комплекси на Zn(II), Co(II) и Ni(II) с Коджикова киселина (3 броя) върху туморни и нетуморни клетки;

- установената зависимост между структурата и биологичната активност (цитотоксична и антитуморна) на изследваните метални комплекси, която е предпоставка

за синтезиране на нови вещества с подобрена антитуморна ефективност и биологична поносимост;

- доказаната за първи път способност на статини (ловастатин и флувастатин) да намаляват преживяемостта и 2Д/3Д растежа на трансформирани с ретровирус плъши саркомни клетки (линия LSR-SF-SR), експресиращи онкогена *v-src*.

Приемам и одобрявам представените научни приноси на дисертационния труд. Считаю, че резултатите от това изследване ще намерят приложение и ще са полезни за развитието на онкофармацията.

### **Наукометрични показатели**

Докторантката има 3 публикации по темата на дисертацията: две в специализирани списания и една в сборник от научен форум (в която докторантът е първи автор). Друга важна част от изследването е подготвена за публикуване. Изследователските резултати са представени с участие в няколко научни конференции.

### **Автореферат**

Представеният автореферат е оформен в съответствие с изискванията. Съдържа в съкратен вид всички раздели на дисертацията. Представените резултати са онагледени с фигури и таблици. Авторефератът пълноценно отразява изводите, научните приноси и публикациите по темата на дисертацията.

### **Критични бележки и препоръки**

Ще посоча и някои забележки към представения дисертационен труд:

- По отношение на фиг. 58А считам за излишно представянето на данните за клетъчна линия MCF-7 на отделна фигура, защото цялата фигура е с акцент върху клетъчна линия МДА-MB231
- По отношение на раздела „Обсъждане” считам като желателно сравняване на получените резултати със значително повече резултати от вече осъществени изследвания.
- По отношение позоваването в текста на дисертацията. Желателно е позоваването да е единно (оформено по един и същи начин) в цялата

дисертация, а не по различни начини в различните раздели, което затруднява намирането на публикациите в списъка с литература и обърква читателя.

Имам и въпрос към докторантката: кой от трите метода за оценка преживяемостта на клетките тя смята за най-информативен и защо?

Тези забележки не омаловажават значимостта на извършената от докторанта изследователска работа и научно-приложните приноси на дисертационния труд.

Тематиката е интересна и перспективна и бих препоръчала на докторантката да продължи изследователската си работа в това направление.

### **Заключение:**

Представената от докторантка Милена Главчева дисертация съдържа научни и научно-приложни резултати, получени със съвременни изследователски методи, представляващи оригинален принос за науката и медицинската практика. По структурата и съдържанието си, работата съответства на изискванията към дисертационни трудове на Закона за развитие на академичния състав в Република България (гл. 2, чл. 6 /3/ ) и Правилника за прилагането му (чл. 27).

Докторантката е завършила образователната програма с необходимия брой кредити, отчислена е с право на защита и има достатъчен брой публикации и участия в научни форуми, в съответствие с изискванията на Българската академия на науките за присъждане на образователната и научна степен «доктор». Това ми дава основание като член на научното жури да гласувам „положително“ за присъждане на Милена Главчева на ОНС «доктор» в професионално направление 4.3. Биологически науки, област на висше образование 4. Природни науки, математика и информатика.

15 март 2021

София

Рецензент:..........

(доц. Елена Кистанова, доктор по биология)