

от проф. д-р Рени Емил Калфин, Института по невробиология - БАН

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

Професионално направление 4.3. „Биологически науки“  
Докторска програма „Морфология“

**Автор:** Магистър Милена Митева Главчева

**Форма на докторантурата:** Редовна докторантура

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

**Тема:** „Цитотоксична активност на новосинтезирани метални комплекси с  
Шифови бази и коджикова киселина и на статини върху туморни клетки“

**Научен ръководител:**

Професор Радостина Ивайлова Александрова, доктор – ИЕМПАМ-БАН

### 1. Кратко представяне на докторанта

Милена Митева Главчева е родена в гр. Първомай на 11 октомври 1969 г. През 1988 г. тя завършва средното си образование в училище „Проф. Асен Златаров“ в паралелка със специалност „Биотехнологии“ в същия град. Образователно-квалификационната степен „Бакалавър“ по специалността „Биотехнология“ Милена Главчева придобива през 2006 г. в Химикотехнологичен и металургичен университет - София. През 2008 г. Милена става „Магистър“ по специалността „Клетъчна биология“ в Пловдивския университет „Паисий Хилендарски“.

В редовна докторантура по научната специалност „Морфология“ тя е зачислена през януари 2016 г. в Института по експериментална морфология, патология и антропология с музей при БАН., а през 2019 г. е отчислена с право на защита.

Милена ползва свободно английски език в своята научно-изследователска дейност. Тя е член на Българското анатомично дружество от 2017 г.

### 2. Актуалност на тематиката

Темата на предоставения ми за рецензиране Дисертационен труд е актуална, защото е посветена на едно от най-сериозните предизвикателства пред съвременната медико-биологична наука – търсенето на нови антитуморни препарати с висока ефективност 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 и факта, че от 2010 г. те са на първото място в света като причина за смърт, измествайки сърдечно-съдовите заболявания. В резултат на съвместните усилия на учени и лекари са разработени многобройни нови терапевтични подходи за лечението на рака. Въпреки това, комплексният характер на злокачествените онкологични заболявания продължава да е трудност за тяхното лечение, която може да бъде преодоляна едва когато бъдат създадени лекарствени агенти, способни да се противопоставят на хетерогенността и изменчивостта на туморните клетки от една страна и на множествената лекарствена устойчивост от друга. Всичко казано дотук прави темата на дисертационния труд актуална в научно и научно-приложно отношение и обосновава необходимостта от проведените изследвания.

### **3. Познаване на проблема**

От направената обширна литературна справка се вижда, че докторантката е отлично запозната със състоянието на изследвания проблем, който е обект на нейния дисертационен труд. Литературният обзор се състои от шест раздела и е богато онагледен с 42 фигури и 17 таблици. В първите четири раздела на обзора докторант Главчева много добре представя значимостта на изследвания проблем, прави обща характеристика на малигнените тумори, тяхната етиология и поведение на имунната система в онкологичния процес. В петия раздел на обзора докторантката описва и анализира различни лечебни стратегии и използвани съвременни антинеопластични химиотерапевтици, докато шестият раздел на литературната справка е посветен на биологичната роля и антитуморните характеристики на изследваните в дисертационния труд вещества – статини и новосинтезирани метални комплекси с Шифови бази и коджикова киселина. Литературният обзор като цяло е много подробен и е написан при компетентно боравене с научната терминология. Докторантката е анализирала изследвания проблем, набелязала е установени зависимости и е маркирала някои нерешени въпроси.

### **4. Методика на изследването**

В дисертационния си труд докторант Милена Главчева изследва влиянието на новосинтезирани метални [Zn(II), Cu(II), Co(II)] комплекси с Шифови бази и с коджикова киселина, също на статините Ловастатин и Флувастатин върху преживяемостта и пролиферативната активност на култивирани в лабораторни условия клетки от неоплазии при човек и върху трансформирани с вируси (птичи ретровируси, човешки папилломни вируси) туморни клетки.

Докторантката е доказала уменията си за работа с клетъчни култури, придобити под ръководството на проф. д-р Радостина Александрова. Като



моделни системи при провеждане на експериментите са използвани клетъчни линии, получени от вирус-трансформирани трансплантируеми тумори в животни и от две най-често срещани неоплазии при жените - рак на гърдата и карцином на шийката на матката.

Влиянието на изследваните вещества върху клетъчната преживяемост е определяно с различни методи (МТТ тест, оцветяване с кристалвиолет, тест за включване на неутрално червено, багрене с трипаново синьо). Клетъчната пролиферация е определена чрез изследване експресията на ядрен белтък Ki-67, също е проследено влиянието на изучаваните вещества върху способността на туморните клетки да образуват триизмерни колонии в полутечна среда. Проучена е способността на изследваните вещества да предизвикват двойноверижни скъсвания в ДНК молекулите, като е идентифициран типа на клетъчната смърт – апоптоза или некроза

В заключение в дисертационния труд са използвани съвременни методи, като много добро впечатление прави както разнообразието им, така също адекватното им описание, позволяващо те да бъдат повторени от всеки, който прояви интерес към тях. Специално внимание заслужават клетъчните линии, включени като експериментални модели при провеждането на изследванията – те включват вирус-трансформирани, експресиращи онкогени пилешки хепатомни клетки (линията LSCC-SF-Mc29 и нейните клонове са създадени и охарактеризирани от проф. Радостина Александрова) и плъши саркомни клетки (линията LSR-SF-SR е получена и охарактеризирана от доцент д-р Ивайло Александров), също клетъчни линии, създадени от някои от най-честите и отличаващи се с висока злокачественост новообразувания при човека.

## **5. Характеристика и оценка на дисертационния труд и приносите**

Дисертационният труд е много добре написан – интелигентно и с много знания, богато е онагледен с 58 таблици и 87 фигури. Той е написан на 219 страници по стандартната схема и включва всички раздели за един такъв труд. Библиографията се състои от 231 коректно цитирани литературни източници, които са подредени по реда на тяхното появяване в текста на дисертационния труд, 2 от които са на кирилица и 229 на латиница.

Поставените задачи са 6 на брой и отговарят на целта на дисертационния труд да се изследва цитотоксичната активност на новосинтезирани метални комплекси и на статини върху преживяемостта и пролиферативната активност на култивирани в лабораторни условия човешки и животински ракови клетки. Собствените резултати са представени на 76 страници, богато онагледени са с 37 фигури и 38 таблици. Обсъждането на резултатите очертава докторанта като знаещ изследовател.



Приносите обобщават получените от Милена Главчева оригинални експериментални данни.

С приносен характер е доказаната способност на статини да намаляват преживяемостта и 2D/3D растежа на трансформирани с ретровирус плъши саркомни клетки, експресиращи онкогена *v-src*.

Оригинални са получените данни относно преживяемостта и пролиферативната способност на туморните клетки, предизвиканите цитопатологични изменения в тях и смъртта чрез апоптоза и некроза под влияние на новосинтезирани комплекси на цинк и мед с Шифови бази и с коджикова киселина.

В заключение това е един сериозен, трудоемък, с използване на много експериментални методики дисертационен труд, който заслужава уважение.

#### **6. Преценка на публикациите и личния принос на докторанта**

Милена Главчева лично участва в проведеното дисертационно изследване. Приносите на дисертационния труд, отбелязани от докторанта, са нейно дело, получени с подкрепата и съдействието на научния й ръководител. Резултатите от проучванията на редовен докторант Главчева във връзка с дисертацията са обобщени в 4 научни статии в съавторство (една подготвена за печат), като в две от статиите докторантът е първи автор. Забелязано е също едно цитиране на реферираната в международните бази-данни научна публикация във връзка с дисертационния труд.

#### **7. Автореферат**

Авторефератът е написан на 51 стандартни страници и напълно съответства на съдържанието на дисертационния труд. От автореферата може да се добие представа за направеното научно изследване. Оформен е добре. Включени са всички основни за дисертационния труд резултати, техният анализ и обсъждане. Както самата дисертация, така също авторефератът е богато онагледен с таблици, графики и цветни снимки. Забележката ми към автореферата е заглавието му да съответства на това на дисертационния труд.

#### **ЗАКЛЮЧЕНИЕ**

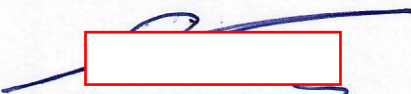
Дисертационният труд на магистър Милена Митева Главчева е посветен на актуален за медицинската практика проблем. При изпълнението на задачите докторантката показва много добро познаване на литературата по проблема, на експерименталните постановки и методики, възможности за самостоятелна научно-изследователска работа, зрялост при представянето на резултатите. Установените в дисертационния труд връзки между структурата и биологичната



активност на изследваните метални комплекси ще улесни синтезирането на нови вещества с подобрени антитуморна ефективност и биологична поносимост. Предвид добре проведеното изследване, достатъчният по обем материал, цялостното оформление на разработката и научните публикации във връзка с дисертационния труд, с убеденост препоръчвам на уважаемите членове на Научното жури да гласуват положително за присъждането на образователната и научна степен „Доктор“ на магистър Милена Митева Главчева в докторска програма по „Морфология“, професионално направление 4.3. „Биологически науки“.

19 март 2021 г.

**Изготвил становището:**

  
Проф. д-р Рени Калфин