

БЪЛГАРСКА АКАДЕМИЯ НА НАУКИТЕ
И-Т ПО ЕКСПЕРИМЕНТАЛНА МОРФОЛОГИЯ,
ПАТОЛОГИЯ И АНТРОПОЛОГИЯ С МУЗЕЙ

Вх. № 80
..... 22.03 2021 г.
СОФИЯ

СТАНОВИЩЕ

От проф. д-р Ренета Тошкова, доктор, секция "Патология", при ИЕМПАМ-БАН определена за член на научно жури, съгласно Заповед № РД-15-7/15.01.2021 г. на Директора на ИЕМПАМ – БАН

Относно: Дисертационен труд 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“; Научна специалност: Морфология (шифър: 01.06.26)

На тема: „ВЛИЯНИЕ НА НОВОСИНТЕЗИРАНИ МЕТАЛНИ КОМПЛЕКСИ С ШИФОВИ БАЗИ И КОДЖИКОВА КИСЕЛИНА И НА СТАТИНИ ВЪРХУ ТУМОРНИ КЛЕТКИ“

Докторант: Милена Митева Главчева, редовен докторант в секция „Патология“, ИЕМПАМ – БАН

Научен ръководител: проф. Радостина Ивайлова Александрова, доктор

Представените материали на хартиен и електронен носител са структурирани в съответствие с изискванията на ЗРАСРБ и правилника за неговото приложение, на вътрешните правилници на БАН и ИЕМПАМ и включват задължителните за процедурата материали.

Дисертационният труд на Милена Митева Главчева е написан на 218 нестандартни страници, оформен е съгласно възприетия класически модел и съдържа обичайните раздели. Посветен е на един от най-актуалните здравни проблеми в човешката патология, онкологичните заболявания и терапията им. Настоящият дисертационен труд е продължение и надграждане на изследванията в областта на комплексни съединения на есенциални метали с различни лиганди, включващи Шифови бази и коджикова киселина, като нови и потенциални антитуморни лекарствени агенти, съчетаващи висока цитотоксичност, добра биопоносимост и мултитаргетен механизъм на действие. Дисертационният труд обогатява изследванията и за пренасочване (drug repurposing) на съществуващи лекарствени препарати, с добре характеризирани фармакокинетика, фармакодинамика и безопасност, каквито са статините за ново приложение в онкологията.

Литературният обзор е системен и задълбочен преглед на състоянието на проблема в световен и национален мащаб и дава подробна научна информация върху обща характеристика, етиология и патогенеза на злокачествените тумори; поведение на имунната система в хода на онкологичния процес; лечебни стратегии и терапии на злокачествените заболявания; биологична роля и антитуморна характеристика на метали (Zn,

Co, Cu, Ni); на метални комплекси с Шифови бази или Коджикова киселина; на статини (ловастатин и флувастатин).

Целта е ясно и точно дефинирана, и за реализацията и са формулирани 6 конкретни задачи. Дисертационният труд е изпълнен на високо методологично ниво. Приложен е адекватен експериментален дизайн включващ класически и съвременни методи, старателно и подробно описани, което позволява тяхната възпроизводимост от други изследователи. Използван е богат експериментален материал. Опитите са поставени правилно и са изведени при наличието на съответни стандарти или контроли. Изследвани са 10 комплексни съединения на метали с шифови бази или коджикова киселина и 2 статина. Експериментите са проведени в 2D и 3D моделни системи: на три човешки постоянни туморни клетъчни линии съответстващи на двете най-често срещани онкологични заболявания при жени - рак на млечната жлеза (MDA-MB-231 и MCF-7) и аденокарцином на шийката на матката (HeLa) и на една нетуморна (Lep-3) човешка клетъчна линия от ембрионални човешки фибробласти; на две оригинални клетъчни линии LSCC-SF-Mc29 и LSR-SF-SR, получени от трансплантируеми тумори в пиле и плъх, индуцирани с онкогенни ретровируси, експресиращи съответно v-myc и v-src онкогени. Раздел „Резултати“ включва голям обем собствени данни на докторантката, които са документирани и представени с 39 многокомпонентни фигури или снимки и 39 таблици.

Установено е, че изпитваните новосинтезирани съединения понижават в различна степен преживяемостта и/или пролиферативната активност на използваните туморни клетъчни линии, доказано с 3 метода за цитотоксичност (MTT, NR и CV) с различни клетъчни/молекулни мишени и механизми на действие и наблюдаваният ефект е време- и дозо-зависим. Най-силен цитотоксичен ефект срещу туморните клетки показват комплексите на Zn(II) и Co(II) с Коджикова киселина – ZnKoj и CoKoj, чиято ефективност надхвърля тази на класическия цитостатик – цисплатина.

Доказани са характерни цитопатологични изменения в туморни клетки след третиране с изпитваните новосинтезирани съединения чрез комбиниран флуоресцентен метод (акридин оранж и пропидиев йодид), чрез оцветяване с хематоксилин и еозин, и чрез имуноцитохимично доказване на експресията на маркера за клетъчна пролиферация Ki-63.

Установено е инхибиращо влияние върху 3D колонии-образуващата способност на туморни клетки с човешки и животински произход след третиране с комплекси на метали с шифови бази или коджикова киселина.

Статините (ловастатин и флувастатин), приложени в концентрации 1-200 µg/ml статистически значимо намаляват преживяемостта и пролиферативната активност на плъши саркомни клетки (LSR-SF-SR),

експресиращи v-src онкоген и предизвикват цитопатологични изменения, характерни за клетъчна смърт чрез апоптоза.

Получените резултати са убедителни, допринасят за изясняване на влиянието на новосинтезирани метални комплекси с шифови бази и коджикова киселина и на статините ловастатин и флувастатин върху човешки и животински туморни клетки в *in vitro* моделни системи, и имат потенциално значение за медицинската практиката, което позволява да се даде положителна и много висока оценка на проведените изследвания и получените резултати.

Дискусията е стегната и успешно интерпретира получените собствени резултати в съответствие с наличните в литературата. Задълбоченият анализ води до формулиране на 4 извода и 4 приноса, от които 3 оригинални и 1 с потвърдителен характер. Приемам напълно самооценката на докторантката за приносите в дисертационния труд.

Във връзка с дисертацията са представени 4 научни статии на английски език, 3 от които отпечатани (Biomed J Sci & Tech Res, 2018; Acta morphologica et anthropologica, 2018; The Proceedings of the XVth Workshop "Biological Activity of Metals, Synthetic compounds and Natural Products", 2020) и 1 статия-подготвена за печат. Забелязан е 1 цитат към момента на защитата.

В заключение, обемът и качеството на проведеното комплексно изследване определят дисертационния труд на Милена Главчева, като добре замислена, методично обоснована и прецизно изпълнена иновативна научна разработка. Получените резултати допринасят за разширяване на наличните знания по темата на дисертацията и имат изразен фундаментален и научно-приложен характер. Докторантката демонстрира теоретични знания, професионални умения по научната специалност, както и умения за самостоятелни научни изследвания.

Обемът и качеството на дисертационния труд и успешното изпълнение на образователната и научна програма напълно покриват критериите на ЗРАС в РБ и правилника за неговото приложение, и на вътрешните правилници на БАН и ИЕМПАМ.

Във връзка с гореизложеното, давам положителна и висока оценка на дисертационния труд и убедено препоръчвам на членовете на почитаемото Научно жури да гласуват „ЗА“ присъждане на образователната и научна степен „Доктор“ на Милена Митева Главчева в Професионално направление 4.3."Биологически науки", научна специалност "Морфология" (шифър: 01.06.26).

22 март, 2021г., София

Рецензент:


проф. д-р Ренета Тошкова