

РЕЦЕНЗИЯ

От проф. д-р Росица Замфирова

Ръководител на направление „Биологични ефекти на природните и синтетични вещества“ – ИНБ, БАН

Относно дисертационен труд, насочен за публична защита за присъждане на образователната и научна степен „Доктор“ в областта на висшето образование 7. Здравеопазване и спорт. Професионално направление 7.1. Медицина. Научна специалност „Фармакология“ (03.01.24)

на докторант Лора Владимирова Дякова на тема:

ВЛИЯНИЕ НА НЕСТЕРОИДНИ ПРОТИВОВЪЗПАЛИТЕЛНИ СРЕДСТВА, ЖЛЪЧНИ КИСЕЛИНИ И ТЕХНИ МЕТАЛНИ КОМПЛЕКСИ ВЪРХУ ПРЕЖИВЯЕМОСТТА И ПРОЛИФЕРАТИВНАТА АКТИВНОСТ НА ТУМОРНИ КЛЕТКИ...

. с научни ръководители:

Проф. д-р Рени Емил Калфин, ИНБ – БАН

Проф. д-р Радостина Ивайлова Александрова, ИЕМПАМ-БАН

Процедура на обявяване на публичната защита

Лора Владимирова Дякова е зачислена като задочен докторант по научната специалност „Фармакология, вкл. фармакотерапия и химиотерапия“ в Институт по невробиология на БАН със заповед № 42 /01.02..2013 г. на Директора на института и е отчислена с право на защита със заповед № 107/21.02.2017 г. Работата на асистент Дякова е обсъдена и одобрена на разширен научен колегиум на направление „Синаптична сигнализация и комуникации“. На заседание НС на ИНБ, състояло се на 28.03.2019 г., е разкрита процедура за защита на докторантката и е избрано Научно жури за придобиване на образователната и научна степен „Доктор“ по научна специалност „Фармакология“. Одобреното от НС Научно жури е назначено със заповед № 255/04.04.2019 г. на Директора на ИНБ.. На неговото първо заседание, състояло се на 12.04.2019 г., бях избрана за рецензент на докторантския труд.

Декларирам, че нямам съвместна научна и публикационна дейност с Лора Владимирова Дякова .

За изготвяне на рецензията докторант Лора Владимирова Дякова е представила изискуемите материали (дисертация, автореферат, публикации, автобиография). Рецензията е изготвена съгласно изискванията на ЗРНСРБ, Правилника за неговото приложение и Правилника за прилагането му в ИНБ-БАН.

Биографични данни на кандидата

Лора Владимирова Дякова получава бакалавърска степен по молекулярна биология в СУ "Св. Климент Охридски" през 2008 г. През 2010 придобива образователно-квалификационната степен магистър по вирусология в същия университет.

От 2009 г. започва работа в ИНБ, БАН, като специалист – биолог, а от декември 2011 г. - като асистент в направление „Синаптична сигнализация и комуникации“, лаборатория „Невропептиди“. От февруари 2013 г. е зачислена като задочен докторант в ИНБ-БАН. Заслужава да се отбележи и големия брой курсове (9), главно в областта на онкологията и имунологията, на които докторантката е присъствала, което безспорно повишава нейната компетентност и практически познания в тези области. За това допринасят и спечелените 5 стипендии за участие в „Черноморско международно училище по имунология“, провеждано ежегодно в различни градове на България. Добрата езикова подготовка - ползва английски и немски езици – е предпоставка за добра информираност по разработваната тематика. Асистент Дякова е член на 4 български и 2 международни научни дружества. Участва активно в организирането на 27 научни форуми, проведени в София, като член на младежки организационен комитет.

Дякова е доказан активен изследовател и изграден учен, който до момента има впечатляваща публикационна дейност - общо 41 публикации (8 в списания с ИФ, 16 в списания без ИФ, 17 доклада, изнесени на международни и национални конференции, публикувани в пълен текст) и 331 участия в научни форуми.

Участвала е при разработването на 10 проекта, финансирани от български източници; в 8 проекта, финансирани от външни за България източници; в 8 проекта, финансирани от БАН и 7 по ЕБР. Била е ръководител на 3 проекта (2 по проектограма за подпомагане на младите учени БАН и 1 по проект „Наука и бизнес“, оперативна програма „Развитие на човешките ресурси“). Научната ѝ дейност е отличавана многократно – получила е 3 трети, 3 втори и 4 първи награди за представени постери и 6 награди в ежегодния конкурс за изявен млад учин от ИНБ

Актуалност на дисертационния труд

Дисертационният труд е посветен на изключително актуален и болезнен за обществото ни проблем – борбата със злокачествените новообразования, от които са засегнати в България около 35000 човека годишно. Намирането на ефикасна лекарствена терапия е силно затруднено от факта, че злокачествено трансформирани клетки са не чужди, а видоизменени собствени клетки, и от различните форми на неопластични промени.

Представената работа е мотивирана от необходимостта за създаване на високо ефективни противотуморни средства, които да имат висока селективност по отношение

на раковите клетки и възможно по-ниска токсичност за здравите, както и по-малко странични ефекти.

Структурирането на дисертационния труд е съобразена с общоприетите съотношения между отделните раздели. Той съдържа 330 стандартни машинописни страници, от които въведение-3стр., литературен обзор – 70 стр., цел и задачи – 1стр., материали и методи – 19 стр. Резултатите са описани на 156 стр. и обсъдени в 20 стр. Изводите и справка за приносите са представени на 4 стр. Библиографията включва 350 литературни източника, от които 38 на кирилица и 312 на латиница.

Обзорът е много подробен и има характера на обзорна статия. Разгледани са : биологията на раковите клетки и туморния растеж, основните типове на лекарствена терапия, дадена е подробна класификация на антитуморните препарати, описана е лекарствената устойчивост на раковите клетки, посочени са страничните им ефекти. За всяка група от лекарствени средства е разгледан вероятния механизъм на действие. Специално място е отделено на биологична активност на жлъчните киселини и техни производни, НПВС и биологичната активност на метали...Посочени са разликите в заключенията от изследванията на различни автори според които някои жлъчни киселини могат да са проканцерогенни или с цитотоксично действие в зависимост от изследваната туморна линия.

Целта на изследването е ясно формулирана -да се изследва влиянието върху преживяемостта и пролиферативната активност на култивирани човешки и животински туморни клетки на две групи новосинтезирани съединения:- комплекси на Zn(II), Cu(II) и Ni(II) с жлъчни киселини (урсодезоксихолева, дезоксихолева, хиодезоксихолева); и комплекси на същите метали с нестероидни противовъзпалителни средства (мелоксикам, пироксикам, изоксикам).Този избор е добре аргументиран в литературния обзор на работата, в който се посочва наличието на данни за участие на ЖК както в канцерогенезата, така и за тяхно антитуморно действие, установено от редица автори, включително и в предишни изследвания с участието на докторантката. Аргумент за използването на НПВС са литературни данните за антитуморния им ефект в клетъчни култури, животински модели и епидемиологични проучвания при хора, както и съобщенията че техните медни комплекси са с по-силно изразени антинеопластични свойства Прави добро впечатление, че описаните методи за лечение са съобразени с

прилаганите у нас терапевтични схеми – в тази част са цитирани почти само български автори.

Задачите са точно и конкретни, добре дефинирани и отразяват всички изследвания, които са необходими за постигането на определената цел

За тяхното изпълнение са използвани адекватни, информативни и различни по характер методи - цитотоксични (MTT, NR, CV, TB), молекулярно-биологични (кометно изследване), биохимични (определяне на съдържанието на общ белтък в клетката) и цитологични (оцветяване с АО/PI). Опитите са провеждани както в “краткосрочни експерименти” с монослойни култури (24-72 часа, в някои случаи до 120 час), така и в дългосрочни експерименти с 3D колонии от туморни клетки (3D колонии-образуващ метод, с продължителност от 14-16 до 30-45 дена). Методите са грижливо подбрани и подробно описани. Очевидно е желанието на докторантката да изследва възможно по-всеобхватно ефектите и механизмите, по които изследваните съединения ги осъществяват

Определяна е клетъчна жизнестойност/преживяемост (по 3 метода) на изследваните култури, способността на веществата да предизвикват патологични промени в третираните клетки (едноверижни и двойноверижни скъсвания в ДНК молекулите). Идентифицирани са типа на клетъчната смърт – апоптоза или некроза, 3D колонии-образуващата способност на туморни клетки. Част от изследванията са проведени в колаборация с колеги от други институти. Това осигурява при разработката да бъдат използваните най-съвременни методи и е гаранция за получаване на надеждни резултати.

Проучени са общо 26 съединения върху 9 туморни и 1 нетуморна клетъчна култура от човек, плъх и пиле – **Резултатите** са описани в 2 основни раздела Жлъчни киселини и техни метални [Cu(II), Zn(II), Ni(II)] комплекси и НПВС и техни метални [Cu(II), Zn(II), Ni(II)] комплекси. Получените данни са представени прецизно и изключително добре онагледени - 55 таблици и 95 фигури. Съставянето на сборни таблици е добро хрумване за улесняване на възприемането и усмислянето на този огромен материал. Много информативно е използването като положителна контрола на утвърдени в клиничната практика антитуморни препарати - цисплатина, оксалиплатина и епирубицин.

Статистическата обработка е извършена с подходящ софтуер.

Обсъждане

Обсъждането обобщава внимателно и критично получените експериментални данни. Те показват, че изпитваните вещества (жлъчни киселини, НПВС и техни метални комплекси) намаляват в различна степен концентрация-зависимо преживяемостта и пролиферативната активност на експерименталните модели туморни клетки, предизвиквайки в тях цитопатологични изменения

Като цяло, установената цитотоксичната активност на новите съединения е по-слабо изразена в сравнение с цисплатина, оксалиплатина и епирубицин, но по-висока от тази на изходните съединения. Заслужава да се отбележи обаче, че при клетките от линия MCF-7 луминален тип А рак на гърдата комплексът на Cu(II) с пироксикам показва по-висока цитотоксична активност (ЦК50, определена на 72 час с МТТ тест) в сравнение с тези клинично прилагани антитуморни препарати. Обсъдена е възможността цитотоксичността да е резултат от ДНК увреждания, определяни с кометния тест Асист.Дякова подчертава, че наблюдавания ефект е пряко зависим от специфичността на туморната клетъчна линия, Детайлно са дискутирани възможните механизми, по които изследваните комплекси биха могли да реализират наблюдаваните ефекти. Относно механизма на действие данните, получени от дисертантката, са съпоставими с тези докладвани от други автори. Резултатите от проучването дават основание авторката да подкрепя заключението на тези изследователи, според които жлъчните киселини и техните метални комплекси (най-изразено при дезоксиголевата киселина и нейните метални комплекси) имат противотуморно действие -намаляват преживяемостта на култивирани човеки и животински туморни клетки.

Основен извод е,.

1. Че жлъчните киселини (урсодезоксихолева, дезоксихолева, хиодезоксихолева) и НПВС (мелоксикам, пироксикам, изоксикам) имат цитотоксично действие върху култивирани в лабораторни условия злокачествено трансформирани клетки и
2. Свързването на тези съединения в метални комплекси увеличава цитотоксичното действие в сравнение с това на изходните субстанции при същите условия.
3. Най-силно изразени цитотоксични свойства показват металните комплекси на дезоксихолева киселина, мелоксикам и пироксикам, установено в експерименти върху монослойни и 3D култури.

Приносите са коректно разделени на такива с приносен и потвърдителен характер

Резултатите от изследванията са публикувани в общо 7 статии -5 статии в списания с ИФ,(като в 2 от тях Дякова е водещ автор, което носи 42,64г)и 2 в реферирани и индексирани в световноизвестни бази данни, без импакт фактор (Дякова е първи автор и на двете, 12,39г) Фрагменти от дисертацията са публикувани в сборници от 2 научни форуми в България и 2 в чужбина (Дякова е водещ автор). До момента са установени 5 цитирания. Общият брой точки на докторантката е 72.53.

Авторефератът отразява същността на дисертационния труд, и дава пълна представа за извършената работа, като акцентира върху най-приносните резултати от изследването.

Заключение: Представен е един напълно завършен научен труд, който е насочен към проблем със социална значимост.

Извършено е много голямо по обем и трудоемко изследване. Докторантката е усвоила и умело използва много и разнообразни изследователски методи и техники, владее в детайли литературата по проблема, самостоятелно интерпретира експерименталните данни. Резултатите от изследването и произтичащите от тях изводи доказват по-високата цитотоксичност на металните комплекси в сравнение с изходните съединения. Направените изводи и приносите на настоящата разработка обогатяват знанията за въздействието на металните комплекси върху култивирани в лабораторни условия туморни клетки са с научна стойност за експерименталната онкофармакология. Дисертационният труд показва, че докторантката притежава необходимите теоретични и практически знания за самостоятелна работа.

Представеният материал напълно отговаря на изискванията за защита на дисертационен труд за присъждане на образователна и научна степен "Доктор". Поради това давам своята положителна оценка и предлагам на уважаемото Научно жури да присъди образователната и научна степен "Доктор" по научна специалност „Фармакология, вкл. фармакотерапия и химиотерапия“ ” на докторант Лора Владимировна Дякова.

24.04.2019 г.

София

Рецензент


проф. Р. Замфирова