

СТАНОВИЩЕ

от проф. дхн Иво Грабчев

Катедра „Химия и биохимия, физиология и патофизиология“
Медицински факултет на СУ „Св. Климент Охридски“

на дисертационен труд
за получаване на образователната и научна степен „Доктор“,
разработен от

ас. Лора Владимирова Дякова

задочен докторант
в Институт по невробиология при Българската академия на науките

по „Професионално направление 7.1. „Медицина“,
Научна специалност „Фармакология“

на тема:

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

Лора Владимирова Дянова е родена през 1985 г. в гр. Дупница. През 2008 г. тя завършва бакалавърска степен по специалността „Молекулярна биология“ в Биологическия факултет на Софийския Университет „Св. Климент Охридски“, а през 2010 г. се дипломира като магистър по специалността „Молекулярна биология с професионална квалификация „Молекулярен биолог – магистър по „Виросология“. През февруари 2009 г. постъпва в Институт по невробиология при Българската академия на науките като специалист-биолог, а от декември 2011 г. до сега е асистент в същия институт.

Разработеният от Лора Дянова дисертационен труд е значителен по обем, като е изложен на 310 стр. Той съдържа 95 фигури, 55 таблици и са цитирани 310 литературни източници, голяма част от последните десет години, което показва актуалността и значимостта на проведените изследвания.

На базата на задълбочения литературен обзор (70 стр.) е формулирана основната задача на дисертационния труд: Изследване влиянието върху преживяемостта и пролиферативната активност на култивирани в лабораторни условия 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);

Комплекси на Zn(II), Cu(II), Co(II) и Ni(II) с нестероидни противовъзпалителни средства НСПВС (мелоксикам, пироксикам, изоксикам).

За изпълнението на тази задача докторантката си посавя пет основни задачи. С разработването на дисертационния труд за първи път е изследвана биологичната активност на 20 нови съединения: осем комплекса на Zn(II), Cu(II) и Ni(II) с жлъчни киселини (урсодезоксихолева, дезоксихолева и хиодезоксихолева) и 12 комплекса на Zn(II), Cu(II), Ni(II) и Co(II) с нестероидни противовъзпалителни средства (мелоксикам, пироксикам, изоксикам). Изследвано е влиянието на изпитваните вещества върху преживяемостта и 2D / 3D растежа на раковите клетки в концентрационен интервал 5-200 $\mu\text{g}/\text{mL}$ или до 500 $\mu\text{g}/\text{mL}$ при комплекси на НСПВС). Сравнена е чувствителността на туморни и нетуморни клетки с еднакъв произход към цитотоксичното действие на изследваните вещества. Изследвана е връзка между състава/структурата на веществата и тяхната биологична активност и са направени логични обяснения за изясняване механизма на биологично действие.

При провеждане на тези изследвания, ефектът на антитуморната активност на новите съединения е проследен чрез използване на различни съвременни методи за анализ като: цитотоксични (MTT, NR, CV, TB), молекулярно-биологични (електрофореза на единични клетки в агарозен гел; AnnexinV/FITC тест), биохимични (определяне на съдържанието на общ белтък в клетката) и цитологични (оцветяване с АО/PI) и др. Провеждани са както "краткосрочни експерименти" с монослойни култури (24-72 часа), така и дългосрочни експерименти с 3D колонии от туморни клетки (3D колонии-образуващ метод, с продължителност от 14-16 до 30-45 дни). Всичко това показва, че докторантката успешно е усвоила и използвала тези биоаналитични методи, което несъмнено ще и бъде от полза и в следващите научни изследвания.

Изводите от дисертационния труд могат да бъдат обобщени като:

- Изследваните съединения и техните метални комплекси предизвикват цитопатологични изменения и значително намаляват преживяемостта и/или пролиферативната активност на използваните като експериментални модели клетъчни култури. Установено е, че биологичната активност зависи както от концентрацията им, така и от времето на тяхното въздействие.
- В повечето случаи металните [Zn(II), Cu(II), Co(II), Ni(II)] комплекси на жлъчни киселини и НСПВС проявяват по-силно изразен цитотоксичен ефект в сравнение със съответните лиганди.
- Клетъчно-специфичния отговор е обяснен с различията в биологичните характеристики на злокачествените новообразувания, от които са получени използваните моделни клетъчни линии, а така също и на спецификата на съответните тумори и туморни клетъчни линии.

- Установено е, че нетуморните човешки фибробластоидни клетки от линия Lер-3 проявяват сравнително по-ниска чувствителност към токсичния ефект на изследваните съединения отколкото човешките ракови клетки.
- Чрез краткосрочни и дългосрочни експерименти е установено, че металните комплекси на дезоксихолева киселина, пироксикам и мелоксикам, проявяват по-добре изразени цитотоксични/цитостатични свойства.
- При повечето от изследваните съединения цитотоксичният ефект е по-слаб в сравнение утвърдените в клиничната практика антитуморни препарати като цисплатина, оксалиплатина и епирубицин.

Получените оригинални резултати при изследване на цитотоксичната/антитуморната активност на дезоксихолевата киселина, пироксикам, мелоксикам и техните метални комплекси, са принос в експерименталната онкофармакология, клетъчната/молекулната токсикология и медицинската химия.

Установено е, че изследваните нови метални комплекси проявяват по-добре изразен цитотоксичен ефект върху култивирани в лабораторни условия злокачествено трансформирани клетки, в сравнение със самостоятелно изследваните лиганди.

Приносите от получените експериментални резултати имат както потвърдителен, така и приложен аспект.

В обобщение на казаното до тук може да се заключи, че докторантката успешно се е справила с плануваните задачи. В рамките на дисертационния труд е извършена достатъчна по количество и качество експериментална работа, която разкрива огромен потенциал за бъдещо развитие на тази изключително интересна и модерна тематика в посока на практическото приложение.

Описаните в дисертационния труд резултати са оформени в 5 статии, публикувани в списания с импакт фактор като *CR. Acad. Bulg. Sci., Revista de Chimie, Biotechnology and Biotechnological Equipment, Organometalic Polymers and materials*; 2 статии в реферирани и индексирани списания без импакт фактор: *Trakia J Sci.* и *Acta Morphologica et Anthropologica*; 4 публикации в нереперирани списания с научно рецензиране на база на доклади изнесени на конференции в Тимишоара, Румъния и в София, България. Голяма част от получените резултати са докладвани на научни конференции в страната и чужбина. За актуалността на изследванията и получените добри резултати е показателен и фактът, че гореизброените статии са цитирани пет пъти. Също така прави добро впечатление участието на докторантката в разработването на значителен брой научни проекти.

На база изискванията съобразно ЗРАСРБ и правилника за неговото приложение и Правилника за придобиване на научни степени и заемане на академични длъжности в ИНБ-БАН за придобиване на научната степен доктор, изчисленият общ брой точки е 72.53, което значително надвишава изискуемите от правилниците точки.

Докторантката успешно е взела необходимите изпити и всички документи са представени съгласно изискванията. Авторефератът отразява коректно и точно резултатите от дисертационния труд.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Представените резултати от разработената дисертация са актуални, много добре научно интерпретирани и могат да се отнесат към категориите новост за науката и обогатяване на съществуващите знания. Те напълно отговарят на изискванията на Закона за развитието на академичния състав в Република България и Правилника за условията и реда за придобиване на научни степени и заемане на академични длъжности в ИНБ-БАН. Въз основа на изложеното до тук с убеденост давам положителна оценка на дисертационния труд на **ас. Лора Владимирова Дякова** и предлагам на уважаемите членове на научното жури да подкрепят присъждането ѝ на образователната и научна степен "ДОКТОР" по научната специалност „Фармакология“, професионално направление 7.1. Медицина.

6.05.2019 г

Изготвил становище:.....


/проф. дхн И. Грабчев/