

НА ВНИМАНИЕТО НА  
ЧЛЕНОВЕТЕ НА НАУЧНОТО ЖУРИ  
ПРИ БИОЛОГИЧЕСКИ ФАКУЛТЕТ  
СУ „СВ. КЛ. ОХРИДСКИ”

**РЕЦЕНЗИЯ**

**На дисертационен труд за присъждане на образователна и научна степен „Доктор” по професионално направление 4.3. Биологични науки (Вирусология)**

**Рецензент:** Проф. д-р Златко Николов Кълвачев, дмн  
Военно-медицинска Академия, София;  
Член на научното жури съгласно заповед No.38-656/19.12.2013 г. на Ректора на СУ „Св. Кл. Охридски”

**Тема на дисертацията:** „Влияние на метални съединения (Zn, Zn/Au, Zn/Ag, V) върху растежа на трансформирани с вирус туморни клетки *in vitro* и *in vivo*”

**Автор:** Абдулкадир Махди Абудаллах, докторант в Лаборатория „Вирусология” на БФ, „Св. Кл. Охридски” и ИЕМПАМ, БАН, София

**Научни ръководители:** доц. Стоян Ангелов Шишков, доктор  
доц. Радостина Ив. Александрова, доктор

Туморните заболявания продължават да бъдат сред най-актуалните и значими медицински, социални и икономически проблеми. Известно е, че значителна част от неоплазиите се причиняват от инфекции, предимно вирусни: поне 9 групи вируси са способни да трансформират клетката самостоятелно или в комбинация с други фактори.

Голяма част от научните проучвания през последните години са насочени към търсене и охарактеризиране на вече известни и/или нови вещества и комплекси с изразена цитотоксична или цитостатична активност по отношение на трансформирани (вкл. от вирус) клетки. Със своята разработка, Абдулкадир Махди Абудаллах и неговите научни ръководители, дават своя принос, като изследват различни метални съединения върху растежа на трансформирани с вирус туморни клетки *in vitro* и *in vivo*.

**Структура на дисертационния труд.** Представеният дисертационен труд е написан на 194 стандартни страници и съдържа 59 фигури и 54 таблици. Литературният указател

наброява 402 заглавия с пълна библиография, от които 27 на кирилица. Дисертацията е оформена съгласно възприетата официална схема: титулна страница, съдържание, използвани съкращения – 1 стр., въведение – 2 стр., обзор на литературата – 68 стр., цел и задачи – 1 стр., материали и методи – 26 стр., резултати – 72 стр., дискусия – 19 стр., литературен списък – 19 стр., изводи, приноси, списък с публикации и награди, както и благодарности.

### **Литературна осведоменост и оценка на обзорния материал.**

Представен е значителен по обема на информацията, коректно изготвен и много добре онагледен литературен обзор. Той включва историческите моменти от развитието на разбиранията ни за рака, съвременната класификация на туморите, както и основните фактори, свързани с развитието на злокачествени новообразувания. Разгледани са редица начини и средства за лечение на раковите заболявания, като специално внимание се отделя на основните проблеми пред съвременното лекарствено лечение на неоплазиите - нежеланите лекарствени реакции, лекарствената устойчивост, невъзможността на някои противораковите лекарствени средства да „преодолеят” съществуващите физиологични бариери, наличието на „ракови стволови клетки” и др.

Отлично са разработени разделите II.3. „Антитуморна активност на метали и метални съединения – платина, цинк, сребро, злато и ванадий”, II.4. „Трансформирани с вируси туморни клетки – моделни системи в експерименталната онкология и онкофармакология” и II.5. „Херпесни вируси”. В тях авторът аргументирано излага свойствата и възможностите на различните метали в контекста на възможността за въздействие върху вирус-трансформирани клетки. При анализът на използваната литература авторът посочва кои са обстоятелствата, които трябва да се вземат предвид при избор на „вещество за изпитване”, кои от качествата на това вещество биха отговорили на основните изисквания към антитуморните препарати (напр. действието им да е насочено главно към трансформираната клетка), защо е необходимо да се анализира в детайли зависимостта между структурата/състава на изпитваните съединения и тяхната биологична (антитуморна) активност и др. Предложената информация е добра база за избор на експериментални модели, с цел изясняване на биологичната активност на изпитваните метални съединения в различните експерименти.

Цитираните над 400 литературни източника са умело използвани и допринасят за качеството на обзора, който е добра основа за мотивирано формулиране на целта на дисертационната теза и конкретизиране на задачите, които определят обема и посоката на изследванията.

**Целта и задачите**, които си поставят за решаване Абдулкадир Махди Абудаллах и неговите научни ръководители са значими и перспективни, предвид проблемите, свързани с терапията на онкологичните заболявания. Целта да се изследва влиянието на различни метални съединения върху преживяемостта и пролиферативната активност на вирус-трансформирани туморни клетки, влиянието им върху репликацията на различни херпесни вируси, както и да се изпита ефекта на амониевия ванадат ( $\text{NH}_4\text{VO}_3$ ) върху растежа трансплантируеми туморни клетки има теоретично и практическо значение, с пряко отражение върху контрола на туморните заболявания.

Формулираните 7 основни задачи конкретизират поставената цел и маркират реализирането и чрез:

- определяне влиянието на изследваните вещества върху преживяемостта на клетките от използваните като експериментални модели туморни клетъчни линии;
- сравняване чувствителността на туморни и нетуморни клетки с еднакъв произход към изпитваните метални съединения и проследяване наличието на цитопатологични изменения в култивираните в присъствието на метални съединения туморни клетки;
- проучване ефекта на изследваните вещества върху способността на туморните клетки да образуват 3D колонии в полутечна среда и установяване на ефектът на съединенията върху репликацията на различни херпесни вируси;
- установяване на параметри на влиянието на амониевия ванадат върху растежа на трансплантируеми вирус-индуцирани тумори у плъх, както и проследяване на общите ванадиеви ефекти върху третираните лабораторни животни.

В раздела „**Материали и методи**” подробно са представени характеристиките на използваните в експериментите комплекси на Zn(II) с морфолин бигванид хидрохлорид и метформин хидрохлорид, 8 комплекса на цинк, сребро и злато с производни на 2,6-диформил крезол и амониевият ванадат. За положителни контроли са включвани утвърдени противотуморните препарати – цисплатина, даунорубицин и 5-флуороурацил.

Подбрани са и два добре охарактеризирани чувствителни на ацикловир човешки и два говежди херпесвирусни щама.

Като моделни системи при проведените експерименти са използвани 3 туморни и 5 нетуморни клетъчни линии, както и трансплантируем сарком у плъх, предизвикан с *Rous sarcoma virus* щам *Schmidt-Ruppin* (SR-RSV) и трансплантируем асцитен хепатом на Заждаела у плъх, предизвикан с диметил-амино-азобензен. Всички експерименти с използваните 38 броя лабораторни плъхове Wistar са провеждани при спазване на съответните етични изискванията за работа с тях.

Методите, използвани при *in vitro* експериментите (клетъчно култивиране, определяне на клетъчната жизненост, флуоресцентно активирано клетъчно сортиране - ФАКС), проучванията върху способността на веществата да предизвикват цитопатологични изменения (идентифициране типа на клетъчната смърт, тест за туморогенност *in vitro*), както и тези, използвани при експериментите *in vivo* (имплантиране на туморни клетки в лабораторни животни, определяне степента на потискане на туморния растеж, различните патоморфологични, патохистологични, биохимични и др. изследвания) са достатъчни като количество и качество, и отговарят на целта и задачите на дисертацията. Статистическата обработка на експерименталните данни е извършвана по метода на вариационния и еднофакторния дисперсионен анализ (ANOVA), със съответни компютърни програми.

Всички използвани материали и методи позволяват да се правят правилни анализи и заключения относно изследваните параметри и специфичните детайли при въздействието на изследваните вещества върху клетките, тъканите и/или вирусите. Те осигуряват получаването на достоверни и убедителни резултати от планираните експерименти.

Разделът „**Резултати**” като цяло има приносен характер. Данните за влиянието на 11-те новосинтезирани комплекса върху преживяемостта и пролиферативната активност на различни вирус-трансформирани туморни и нетуморни животински и човешки клетки, както и анализът на механизмите на действие, са представени подробно и компетентно.

Металните комплекси проявяват по-висока цитотоксична/цитостатична активност в сравнение със самостоятелно приложените съответни лиганди, а наблюдаваният ефект е време- и концентрация- зависим.

Прави впечатление, че комплексите Zn-dmen-Au, Zn-ampy-Au и Zn-aery-Ag проявяват силно изразено цитотоксично и цитостатично действие върху култивирани малигнени клетки, като активността им в някои случаи превъзхожда активността на използваните в съвременната онкологична практика препарати цисплатина, 5-флуороурацил и даунорубицин.

„Силна” част на дисертацията е комплексността при изследванията на биологичната активност на различните вещества – използвани са методи с различни молекулни/клетъчни мишени и механизми на действие, а като потвърдителни се използват тестове с монослойни и с 3D колонии от туморни клетки в полутечна среда.

Принос на дисертационния труд е установената инхибиторна активност на амониевия ванадат при растежа на лабораторно култивирани клетъчни линии от трансплантируеми тумори (пиле/хепатом и плъх/сарком) причинени от вирусни онкогени (v-myc/миелоцитоматозен вирус и v-src/Rous sarcoma virus). Редица от представените резултати могат и трябва да бъдат обсъждани в контекста на патогенезата и терапията при аналогични тумори при човек.

Резултатите, получени при *in vivo* проучванията относно влияние на амониевия ванадат върху растежа на туморни клетки са отлично представени. Проучени са евентуалните странични ефекти, съпътстващи приема на амониев ванадат, влиянието му върху преживяемостта, прираста и поведението на лабораторните животни. Проследяват се различни кръвни и биохимични показатели, както и съдържанието на ванадий в тъканите.

Всички представени в дисертацията резултати са много добре онагледени с 33 таблици и 40 фигури, които убедително подкрепят изложението. Специално отбелязвам, че снимките във връзка с патоморфологичните и патохистологичните изследвания при всички експерименти са с отлично качество.

**Дискусията** на получените резултати е направена много задълбочено, което отново доказва познаване на материята в детайли.

При изследването на новосинтезирани съединения (както в случая) е необходимо предварително обсъждане на правилните подходи за получаване на очакваните резултати, които след това трябва и да се обяснят. Точно това много често са направили Абдулкадир Махди Абудаллах и неговите научни ръководители. Дискусията обхваща всички елементи на разработката и обяснява защо точно тези вещества са били избрани за проучване и критериите за подбор на използваните като експериментални модели клетъчни култури.

Получените резултати са обсъдени многостранно, с различни аргументи и с отчитане на съпоставимостта на резултатите, получени чрез различни изследователски техники. Специално се отбелязва, че при изучаване на цитотоксичната и/или антипролиферативна активност на вещества трябва да се използва едновременно комплекс от методи, регистриращи промените в различни клетъчни молекули и органели, както и основаващи се на различни принципи. Така освен, че се получава цялостна представа за биологичната активност на изследваното вещество, ще могат да бъдат изяснени повече елементи от механизма на действие.

Обсъждането на различната степен на повлияване на отделните клетъчни линии в присъствие на тестваните вещества, както и чувствителността на туморни и нетуморни клетки с еднакъв произход към цитотоксичното действие на изпитваните вещества е направено много задълбочено. Още веднъж се отбелязва, че биологичната активност на металните комплекси се обуславя не просто от присъствието/отсъствието на определен компонент (метален катион, лиганд), но и от структурата на комплекса и взаимното повлияване на изграждащите го единици.

Специално място е отделено и на резултатите от проучванията върху антитуморната активност на амониевия ванадат *in vitro* и *in vivo*. Прави се обосновано обсъждане на различните резултати, получени при двата използвани експериментални модела – инхибиране и стимулиране. Съгласен съм, че отговорите на въпросите, които се поставят в тази връзка не са лесни и определено изискват провежданена допълнителни задълбочени компелксни проучвания.

**Приносите** в дисертационния труд на Абдулкадир Махди Абудаллах са безспорни. Съгласен съм с приложената справка за оригинални, потвърдителни и приложни приноси. Отбелязвам специално, че личният принос на Абдулкадир Махди Абудаллах в разработването на дисертационния труд е несъмнен. За него може да се съди и от представените научни публикации, доклади и съобщения, обсъждащи резултати от дисертацията.

**Науко-метрични показатели.** Във връзка с разработеният дисертационен труд са представени 3 публикации в специализираните научни списания „Journal of BioScience and Biotechnology”, „Comptes rendus de l'Academie bulgare des Sciences Bulgarian” и „Journal of Agricultural Science”, двете от които с IF и 8 материала, отпечатани в сборници от научни форуми, проведени у нас и в чужбина.

На форуми, проведени в България (национални и с международно участие) са изнесени 43 научни съобщения, а на различни конгреси и симпозиуми в чужбина са изнесени 6 съобщения.

Този публикационна активност изпълнява изискванията за присъждане на ОНС „Доктор”. Абдулкадир е първи автор на всички журнални публикации, и в 3 от 8-те материала, публикувани в сборници (в останалите 5 публикации е 2-ри автор). В 28 от 43 научни съобщения Абдулкадир е първи автор, а в други 9 е втори.

За отбелязване е, че редица от изследванията са финансово подкрепни от СУ „Св. Климент Охридски” (Договор №24/05.04.2012) и Договорите за двустранно сътрудничество между Българска академия на науките (ИЕМПАМ) и Румънската академия.

Освен това, Абдулкадир Махди Абудаллах е удостоен с 2 първи награди за участията си в международна медицинска научна конференция за студенти и млади лекари през 2012 и Международен конгрес по медицински науки през 2013 г, както и други награди от престижни научни форуми.

Приложеният автореферат отразява точно основните постижения на дисертацията. Съгласен съм с представените в него резултати, изводи и приноси.

#### **Заклучение:**

Дисертацията на Абдулкадир Махди Абудаллах е актуална, прецизно изпълнена и подходящо оформена. Разработвайки я, докторантът е придобила както необходимите знания за събиране и анализ на специализирана научна информация, така и значителни практически умения за работа с биоактивни вещества и различни лабораторни модели. Представените в разработката резултати са лична заслуга на автора и имат висока теоретична и практическа стойност.

Предвид гореизложеното, предлагам на уважаемите членове на журито при Биологически факултет СУ „Св. Кл.Охридски” да оценят положително дисертацията на Абдулкадир Махди Абудаллах и да му присъдят образователната и научна степен „Доктор” по Професионално направление 4.3 - Биологични науки: Вирусология.

17.02.2014  
София

**Рецензент:**  
Проф. д-р Златко Кълвачев, дмн