

РЕЦЕНЗИЯ

от проф. Елена Б. Николова, дбн

на дисертационния труд на Абдулкадир Махди Абудаллах – „Влияние на метални съединения (Zn, Zn/Au, Zn/Ag, V) върху растежа на трансформирани с вирус туморни клетки *in vitro* и *in vivo*”

Представеният ми за рецензия дисертационен труд е посветен на един изключително съвременен проблем. Едно от най-големите предизвикателства пред съвременната медико-биологична наука е необходимостта от създаване на нови, високоефективни и добре поносими лекарствени препарати за терапия на раковите заболявания. Откриването на антитуморните свойства на цисплатината, а по-късно на карбоплатината и оксалиплатината, насърчи усилията на учените към търсенето и на други метали и метални съединения с изразено антинеопластично действие и отвори нова страница в развитието на фармацевтичната химия. Резултатите не закъсняха и през последните години бяха публикувани множество съобщения за редица метални комплекси, които стигнаха до клинични изпитания.

Дисертационният труд съдържа обичайните раздели «Литературен обзор», «Цели», «Материали и методи», «Резултати», «Обсъждане» и «Ползвана литература».

Литературният обзор обхваща 68 страници и изчерпателно разглежда проблемите на лекарственото лечение на туморите. Систематизирани са употребата на цинк, платина, сребро, злато и ванадий при лечението на различните тумори. Отделено е и подобавашо място на моделните системи в експерименталната онкология и онкофармакология на трансформирани с ретро-, папилома- вируси туморни клетки. Литературният обзор е илюстриран с подходящи фигури и диаграми и много полезни таблици.

Целите на труда:

1. Да се изследва влиянието на новосинтезирани метални (Zn, Zn/Au, Zn/Ag, V) съединения върху преживяемостта и пролиферативната активност на култивирани в лабораторни условия трансформирани с вируси (птичи ретровируси, човешки папиломни вируси) туморни клетки, както и върху репликацията на говежди и човешки херпесни вируси.

2. Да се изпита ефекта на амониев ванадат (NH_4VO_3) върху растежа *in vivo* на клетки от трансплантируеми тумори предизвикани с вируси и химични канцерогени, са поставени правилно и задачите съответстват на поставените цели.

Материалите са описани подробно и ясно на 6 страници, и са онагледени с подходящи таблици с химичния състав на съединенията.

Дисертационният труд е методологично много богат, използвани са методи за клетъчно култивиране, получаване на първични култури от кокоши ембриони, замразяване и размразяване на клетки, определяне на клетъчната жизненост, определяне на пролиферативна активност, определяне на белтък, определяне на различните фази на клетъчния цикъл – ФАКСортиране, предизвикване от страна на тестираните вещества на цитотоксични промени, изследване за способността на веществата да предизвикват промени в ДНК / кометен тест/, идентификация на типа клетъчна смърт, влияние на веществата върху колонии-образуващата функция на клетките, култивиране на различни вируси и определяне на техния титър в присъствие на изследваните комплекси, *in vivo* определяне на подтискането на туморния растеж и много други.

Приложена е статистическа обработка на резултатите. Използвани са вариационен анализ, еднофакторен дисперсионен анализ и програма Графпад Призм.

Резултатите са представени ясно и пригледно на 72 страници. Илюстрирани са с 54 таблици и 59 фигури с много добро качество.

Резултатите доказват че:

Изпитваните съединения намаляват, макар и в различна степен, преживяемостта и/или пролиферативната активност на използваните като експериментални модели култивирани в лабораторни условия вирусно-трансформирани туморни клетки. Наблюдаваният ефект е зависим от концентрацията и времето. Металните комплекси проявяват по-висока цитотоксична/цитостатична активност в сравнение със самостоятелно приложените съответни лиганди. Наблюдаваният клетъчно-специфичен отговор най-вероятно се дължи на различните характеристики на туморите, от които са получени моделните клетъчни линии, включително техния произход (човек, плъх, пиле), хистологичен тип (карцином, сарком, хепатом).

С най-висока способност да намаляват преживяемостта (чрез апоптоза) и пролиферацията на туморни клетки се отличават комплексите Zn-dmen-Au, Zn-ampu-

Au и Zn-аеру-Ag. Обещаващата им антинеопластична активност е установена *in vitro* чрез комплекс от методи с различни молекулни/клетъчни мишени и механизми на действие и е потвърдена както чрез краткотрайни (12-72 часа) тестове с монослойни (2D) култури, така и с дългосрочни изпитания (16 дена) с 3D колонии от туморни клетки. Цитотоксичното/антипролиферативното действие на посочените съединения е напълно сравнимо и в някои случаи превъзхожда това на използваните в клиничната практика антитуморни препарати цисплатина, 5-флуороурацил и даунорубин.

Приложени в нетоксични концентрации комплексите (Zn1, Zn2, Zn3, Zn-аеру-Ag, Zn-Аеру-Au, и Zn-Dmen-Au) не повлияват репликацията на култивирания в бъбречни клетки от теле (линия MDBK) референтни щамове Movar 33/63 и DN599 на говеждия херпесен вирус тип-4, нито на чувствителните към действието на ацикловир човешките херпесни вируси HSV-1 (щам ТМ) и HSV-2 (щам БЯ).

Добавен във водата за пиене амониевият ванадат подтиска растежа на солидната форма на хепатома на Зажда – средните обем и маса на туморите при животните от група Е намаляват съответно с 91% и 81% в сравнение с тези на лабораторните плъхове от група С (които не са приемали амониев ванадат). При третираните с NH_4VO_3 животни от група Е се наблюдават участъци на засилен лизис на туморните клетки.

При плъховете (от група Е) с трансплантируем сарком, предизвикан с SR-RSV, които са приемали амониев ванадат с водата за пиене в продължение на 83 дена средните обем и маса на туморите са по-големи в сравнение с тези при групи С (нетретиран с амониев ванадат) и D. През цялото време на експеримента обаче средният обем на туморите от група D остава по-малък, макар и незначително, в сравнение с този при група С.

Различията в резултатите, получени при експериментите с хепатома на Зажда (Експеримент I – X3) и саркома на Раус (Експеримент II – RST) могат да бъдат обяснени поне частично с различията в етиологията и хистологичния тип на туморите, малкия брой лабораторни животни, нееднаквото време, респективно нееднаквото количество приет амониев ванадат.

Между отделните групи плъхове (Експеримент I – X3) не са установени съществени различия в изследваните от автора кръвни и биохимични показатели,

телесна маса, маса и морфология на изследваните органи (слезка, черен дроб, бъбрек, мозък). Наличие на ванадий е доказано само в слезката, черния дроб и бъбрека на животните от групи В и Е, приемали амониев ванадат в продължение на 70 дена.

Обсъждането на резултатите и сравняването им с известното в специализираната литература е направено стегнато и точно на 20 страници. Обосновани са изборът на веществата и на експерименталните модели. Дискутирани са цитотоксичните и антипролиферативни свойства на изследваните метални комплекси. Съпоставени са резултатите получени с различни изследователски техники. Обсъдени са клетъчно-специфичния отговор, връзката между състава и структурата на комплексите и биологичната им активност, както и механизма на действие.

Използвани са 402 литературни източника, от които 27 на кирилица /на български и руски език/ и 375 на латиница /на английски и немски език/. Половината от цитираната литература е от последните 10 години.

Съгласна съм и с изведените от резултатите 3 оригинални:

1. Получени са данни за влиянието на 11 новосинтезирани комплекса на цинк, цинк/сребро и цинк/злато с морфолин бигванид хидрохлорид (MorfBig), метформин хидрохлорид (Metf) и производни на 2,6-диформил крезол (Diald) върху преживяемостта и пролиферативната активност на култивирани в лабораторни условия вирусно-трансформирани туморни и нетуморни клетки от животински и човешки произход.
2. Доказано е, че комплексите Zn-dmen-Au, Zn-amru-Au и Zn-aery-Ag проявяват силно изразено цитотоксично и цитостатично действие върху култивирани в лабораторни условия злокачествено трансформирани клетки, като активността им се доближава, а в някои случаи превъзхожда, тази на използваните в съвременната клинична практика антитуморни препарати цисплатина, 5-флуороурацил и даунорубицин.
3. Установено е, че амониевият ванадат подтиска растежа на култивирани в лабораторни условия клетъчни линии от трансплантируеми тумори (хепатом у пиле и сарком у плъх) предизвикани с птичи ретровируси, съдържащи онкогените v-myc (миелоцитоматозният вирус Mc29) и v-src (*Rous sarcoma virus* щам *Schmidt Rupp*), чиито клетъчни аналози участват в патогенезата на голям брой неоплазии у човека и животните.

1 с потвърдителен характер:

1. Потвърдена е антинеопластичната активност на амониевия ванадат (приложен във водата за пиене в концентрация 0.5 ppm) по отношение на химически индуцирани чернодробни тумори, в случая – трансплантирум хепатом на Заждела.

и 1 с приложен характер:

1. Разработен, оптимизиран и приложен е комплексен подход за изучаване на антинеопластичните свойства на метални и други съединения върху вирусно-трансформирани туморни клетки, включващ методи с различни молекулни/клетъчни мишени и механизми на действие, краткосрочни и дългосрочни тестове, монослойни култури и триизмерни (3D) колонии в полутечна среда.

приноси на дисертационния труд.

Авторефератът отразява най-съществените достижения на дисертационния труд.

Дисертантът има впечатляваща публикационна активност: две публикации в списания с импакт фактор, 9 в сборници от научни форуми, от които 2 в чужбина, 49 научни съобщения от които 25 български и 18 с международно участие и 6 на чуждестранни научни форуми. Получил е 2 първи, 1 втора и 1 трета награди от международни конгреси. Участвал е в организацията на 5 научни форума.

Кандидатът има и достатъчен брой кредити от докторантски изпити и курсове необходими за защита.

Всичко това ми дава основание да препоръчам на уважаемото Научно жури да присъди научната и образователна степен “Доктор” на Абдулкадир Махди Абудаллах.

19.03.2014г.

Гр. София

/проф. Е. Николова, дбн/