

СТАНОВИЩЕ

от проф. Румяна Цонева,

научен ръководител на докторанта

Институт по биофизика и биомедицинско инженерство, БАН

Относно дисертационен труд на тема: *„Влияние на анти-туморни агенти върху клетъчния мембранен интегритет и цитоскелет”*, на **инж. Веселина Пламенова Узунова**, редовен докторант към Секция „Липид-белтъчни взаимодействия”, Институт по биофизика и биомедицинско инженерство – БАН за придобиване на ОНС "Доктор" в научно направление **4.3. Биологически науки (Биофизика)**

Процедура на обявяване на публичната защита

Инж. Веселина Пламенова Узунова е зачислена като редовен докторант в Институт по биофизика и биомедицинско инженерство, БАН на 01.09.2013 г., а е отчислена с право на защита на 28.02.2017 г. Със заповед № 304 от 02.05.2018 г. на Директора на ИБФБМИ е назначено Научно жури за провеждане на защитата. Докторантката Веселина Пламенова Узунова е представила всички необходими материали (дисертация, автореферат, публикации, автобиография) според изискванията на Закона за развитие на академичния състав в Република България, които са съобразени и с препоръчителните изисквания на ППЗРАСБ на БАН и ИБФБМИ.

Биографични данни на кандидата

Веселина Пламенова Узунова е родена през 1988 г. През 2008 година тя завършва ПГЕБ (Професионална гимназия по екология и биотехнологии) „Проф.д-р. Асен Златаров”, София, България. Висшето си образование магистър, специалност: биотехнологии, квалификационна степен - инженер придобива в Химикотехнологичен и металургичен университет, София през 2011 г. През периода 2011-2012 защитава дипломна работа на тема „Влияние на еруфозин и външно електрично поле върху адхезивното поведение на ракови клетки. Изследване цитотоксичността на еруфозин и хибридни материали съдържащи сребро“ и от 2013 година е зачислена като редовен докторант в ИБФБМИ-БАН.

Веселина Узунова успешно е положила изпит по базов специализиран предмет (докторантски минимум), както и допълнителни изпити на посещавани курсове по „Туморна имунология и наномедицина“ (Октомври 2014г.), „Култивиране на животински клетки“ (Март 2015г.) и „Полимерни и полимер-хибридни наночастици – синтетични подходи, самоасоцииране и потенциални биомедицински приложения“ (Април 2015г.).

Веселина е положила изпит по езикова подготовка (английски език) и компютърни умения (Photoshop).

Веселина Узунова участва в голям брой научни форуми, съавтор е в 19 публикации, участва в 11 проекта, както и е ръководител на един проект към „Програма за подпомагане на младите учени в БАН”. Носител е на първа награда за научен постер на Младежка научна конференция Климентови дни 2017, втора награда за научен постер на Първа национална конференция по биотехнология" 2014 и Награда за иновативен продукт, "Енкапсулиране на пчелен мед", Младежки Иновативен конкурс България, (Junior Achievement Bulgaria), 2011. Притежава сертификати за успешно завършени дистанционни специализирани курсове по: „Въведение в биологията на рака“ Johns Hopkins University, Baltimore, USA, 2016, „ДНК-от молекулно до организмово ниво: University of California, Irvine, USA, 2013, „Програмирана клетъчна смърт“, *Ludwig-Maximilians-University Munich LMU*, Germany, 2013.

Изложената биографичната справка определя докторантката Веселина Узунова като един целенасочен и мотивиран млад учен, който с много усърдие и желание гради научната си кариера.

Актуалност на дисертационния труд и структура

Представеният дисертационен труд на тема: „ Влияние на анти-туморни агенти върху клетъчния мембранен интегритет и цитоскелет“ от инж. Веселина Пламенова Узунова е структуриран съгласно съвременните изисквания и критерии за такъв вид научен продукт, като съдържа въведение, литературен обзор, цел и задачи, материали и методи, обобщение и изводи, приноси и библиография.

Темата на дисертацията третира един много актуален и социално значим въпрос свързан с ефикасността на анти-туморната терапия и по конкретно начините за преодоляването на мултилекарствената резистентност и сериозните странични ефекти възникващи при лечението на туморните заболявания, които в много случаи могат в значителна степен да намалят крайния положителен ефект от терапията. **Предмет на дисертационния труд** е изследването на ефекта на новия анти-туморен агент (принадлежащ към групата на алкилфосфохолините) еруфозин върху клетъчния мембранен интегритет и цитоскелет. В дисертацията последователно се разглежда взаимовръзката между влиянието на еруфозина върху клетъчния мембранен интегритет на клетки от рак на гърдата и запускането на процеса на апоптоза и промени свързани с клетъчния цикъл, както и промените предизвикани от действието на анти-туморния агент върху пролиферативния потенциал на раковите клетки. Основно място е обърнато и на промените в цитоскелета в следствие на третирането с еруфозин и влиянието върху миграционния потенциал на раковите клетки, който има пряко отношение към развитие на туморни метастази. Изследва се и ефекта от комбинирането третиране на раковите клетки с еруфозин и други природни продукти с анти-туморна активност (хемоцианини), както и комбинираното

прилагане на еруфозин и конвенционален цитостатик доксорубин. Установените *ин витро* анти-туморни ефекти са проследени и доказани *ин vivo* използвайки създаден туморен модел в хамстер. Иновативен е и един от подходите за вкарване на анти-туморната субстанция еруфозин в опитните животни чрез използване на пренасяща биоразградима полимерна система, която позволява контролирано освобождаване на анти-туморната субстанция в терапевтични дози. **Избраните многобройни съвременни *ин витро* и *ин vivo* методи** са адекватно подбрани, подробно описани и прецизно изпълнени и помагат за достоверното представяне на резултатите. Приложените статистически методи също допринасят за обективното отразяване на получените данни. Схематичното онагледяване на експерименталните установки допълнително улесняват и онагледяват проведените методи.

Трудът е изготвен общо върху 192 страници, въведението, което е 3 страници точно отразява темата на дисертацията. Литературният обзор заема 38 страници и засяга детайлно и методично описание за етапите на канцерогенезата и възникването на метастази. Разгледани са най-новите разбирания за строежа на цитоскелетните структури и ролята на клетъчните адхезии в етапите на туморната миграция и метастазиране. Описани са нарушенията в регулацията на клетъчния цикъл като важни събития предразполагащи развитието на различни патологични състояния, в това число и възникването на тумори, при което туморните клетки избягват процеса апоптоза, което може да доведе до неконтролирана клетъчната пролиферация и по-нататъшно развитие на рака. Направена е логична връзка между клетъчния липиден метаболизъм и възникването на клетъчна смърт, като са описани промените в липидния метаболизъм водещи до повишена туморна пролиферация. Като маркер за повишена туморна пролиферация служи един от метаболитите на сфингомиелиновия сигнален път сфингозин-1-фосфата. Основно място е отделено на описанието и класификацията на анти-туморните липиди и техният механизъм на анти-туморно действие, който се отличава съществено от действието на конвенционалните цитостатици. Специално внимание е обърнато към разработени нови електропроводими и биосъвместими биоматериали, които биха могли да се използват в регенеративната терапия след туморна резекция или като лекарствени носители.

Целта на дисертацията е формулирана кратко и ясно и логично следва направеното въведение, а именно да се проучи механизма на действие на синтетични и природни анти-туморни агенти върху метастатичния потенциал на клетки от рак на гърдата и в *ин vivo* модел в хамстер. **Въз основа на целта са формулирани четири задачи**, които последователно поставят за изпълнение: **Задача 1.** *Ин витро* изследване на анти-туморна активност на еруфозин; **Задача 2.** Изследване на анти-туморна активност на природни продукти – хемоцианини и техните комплекси с йонни течности; **Задача 3.** Охарактеризиране на биополимери за целите на регенеративната медицина и анти-туморната терапия; **Задача 4.** *Ин vivo* изследване на анти-туморната активност на еруфозин.

Раздел „Резултати и дискусия“ заема 85 страници и е разделен допълнително на четири части (всяка една се отнася за една от поставените задачи), като след изложените резултати следва анализ на данните и кратка дискусия. Този раздел е много добре илюстриран с 91 комплексни фигури включващи снимки с високо качество на микроскопските образи, схеми и 4 таблици, което улеснява възприемането на големия брой експериментални резултати. Веселина умело анализира и интерпретира получените резултати като комбинира получените собствени данни и научните данни от световната научна литература. Последващият раздел **„Обобщение и изводи“** допълва дискуссионната част и допринася за общата завършеност на дисертационния труд и по-пълното възприемане на получените резултати. **В заключение са формулирани 10 извода и са изведени 9 научни и научно-приложни приноса**, които отразяват иновативни идеи и подходи, които биха могли да бъдат приложени в клиничната практика, като сред тях се открояват: *- установеният синергичен анти-пролиферативен ефект при комбинираното прилагане на еруфозин и доксорубицин или хемоцианин ин витро, което определя еруфозина като потенциален агент при преодоляването на множествената лекарствена резистентност; - под действието на еруфозин се индуцира възникване на клетъчен арест в G2/M фаза от клетъчния цикъл потенциално водещ до развитие на апоптоза; - намаляване на клетъчната миграция по действието на еруфозина; - под действието на еруфозина се установява промяна в липидния профил на раковите клетки и важни сигнални молекули на сфинголипидния сигнален път водещи до запускане на процеса на апоптоза; - за първи път е осъществено контролирано освобождаване на еруфозин в хамстер от биоразградима полимерна пренасяща матрица.*

Дисертацията е изготвена прецизно и е на високо академично ниво съгласно законовите изисквания. Авторефератът е изработен обстойно и засяга основните резултати получени в дисертационния труд.

По темата на дисертацията са публикувани 6 научни публикации, 3 от които са публикувани в списания с импакт фактор (**общ импакт фактор 7.7**), като в една от тях докторантката е водещ автор. Една научна публикация е публикувана в международно списание без импакт фактор (Breast Cancer Cells, Science Forecast Publications) и две в сборник трудове от национални конференции. Забелязани са 19 цитата, които са доказателство за международно признание на публикуваните научни резултати. Представени с 6 доклада и 10 постера на национални и международни научни форуми. Основна част от научните изследвания на докторантката е реализирана с финансовата подкрепа по проекти ДНТС/Германия 01/003; ДНТС/Германия/004; ДФНИ-БО 02/5, ДФНИ-БО 02/23 и ДН 11/1 от 2017г, в които докторантът е участник. В рамките на дисертационния период дисертантът е и ръководител на проект № ДФНП-128/12.05.2016 по „Програма за подпомагане на младите учени в БАН”. Посочените данни ясно доказват личния принос на докторантката за изработването и написването на настоящия научен труд. Обективен критерий за високото качество на дисертацията е и публикуването на

статии по него в престижни международни списания като **Carbohydrate polymers (ИФ 5.158)** и **RSC Advances (ИФ-3.108)**.

Заклучение. Въз основа на добре подбраните и прецизно използвани разнообразни съвременни методи и получените научно-приложни резултати, съдържащи се в дисертацията, както и задълбочено проведеното им обсъждане считам, че представеният дисертационен труд на тема „ **Влияние на анти-туморни агенти върху клетъчния мембранен интегритет и цитоскелет** “ напълно отговаря на изискванията на ЗРАСПБ и на Правилника за неговото приложение. Докторантката е придобила значителен научен и изследователски опит и е овладяла ценни и съвременни методи за работа в избраната научна специалност „Биофизика“. Личното ми впечатление от Веселина през всичките ни години на съвместна работа е за един много работлив, целенасочен и всеотдаен млад учен с оригинални научни идеи и виждания, с отлични качества за работа в екип и при обучението на по-младите колеги в секцията. Поради всичко това убедено препоръчвам на членовете на Научното жури, назначено със заповед № 304 от 02.05.2018 г. на Директора на ИБФБМИ, да присъдят на Веселина Пламенова Узунова образователната и научна степен ”Доктор” в област на висше образование 4. „Природни науки, математика и информатика“, професионално направление 4.3. „Биологически науки“, научна специалност „Биофизика“.

5.07.2018

Изготвил становището:

(проф. Румяна Цонева)