

СТАНОВИЩЕ

от проф. д-р Ива Угринова, на дисертационния труд на Тихомира Тихомирова Стоянова „Антитуморни липиди – влияние върху трансмембранната клетъчна сигнализация“, представен за присъждане на образователна и научна степен „доктор“ в професионално направление 4.3 „Биологични науки“ научна специалност „Биофизика“. Научни ръководители: проф. д-р Румяна Цонева; проф. д-р Албена Момчилова, дбн, Лаборатория „Трансмембранна сигнализация“, ИБФБМИ-БАН

1. Актуалност и значимост на разработената проблематика

Дисертационният труд на Тихомира Стоянова е посветен на изключително актуална и научно значима проблематика – изследване механизма на действие на антитуморни липиди и тяхното влияние върху трансмембранната клетъчна сигнализация при ракови клетки. Ракът продължава да бъде сред водещите причини за смъртност в световен мащаб, като ракът на гърдата и ракът на белия дроб заемат водещи позиции по честота и леталитет. Въпреки напредъка на конвенционалните терапии, сериозните странични ефекти и развитието на лекарствена резистентност налагат търсенето на нови, по-селективни и по-малко токсични терапевтични подходи. В този контекст изследването на алкилфосфохолини (еруфозин, милтефозин) и тяхната роля в модулирането на мембрания флуидитет, сфинголипидния реостат и сигналните пътища, свързани с клетъчното оцеляване и апоптоза, е напълно съвременно и с ясно изразен транслационен потенциал. Особено ценен е фокусът върху комбинираната терапия, която цели повишаване на ефективността при пониски дози и намаляване на токсичността. Разработката се вписва убедително в актуалните тенденции на молекулярната онкология и мембранната биофизика.

2. Структура и логическа организация на дисертацията

Дисертационният труд е с обем 139 страници и е структуриран в осем глави, включващи въведение, литературен обзор, материали и методи, резултати и дискусия, обобщение, изводи, приноси и бъдещи научни планове. Структурата е логично изградена и следва класическия модел на експериментален труд в областта на молекулярната биология и биофизиката. Литературният обзор обхваща: рак на гърдата и рак на белия дроб; клетъчна смърт (апоптоза,

некроптоза, некроза); клетъчен цикъл; липиден състав и флуидитет на мембраната; сфинголипиден реостат (церамид/S1P); роля на PKC α и сигнални пътища. Теоретичната рамка е добре систематизирана и създава солидна основа за експерименталната част.

3. Цел и задачи

Целта на дисертацията е ясно формулирана – да се изследва механизмът на действие на антигуморни липиди върху трансмембранната сигнализация при ракови клетки. Поставените задачи включват:

- цитотоксичен анализ на EPC3, DMS и HePC (самостоятелно и в комбинация);
- определяне типа клетъчна смърт;
- количествена оценка на клетъчната смърт;
- анализ на клетъчния цикъл, миграцията и цитоскелета;
- изследване на мембранныя флуидитет и дифузионната динамика;
- анализ на сфинголипидния реостат.

Задачите са конкретни, последователни и напълно адекватни на поставената цел.

4. Материали и методи

Използваният методичен арсенал е впечатляващ по обхват и сложност. Включени са: флоуцитометричен анализ за апоптоза и клетъчен цикъл; Nicoletti тест; RT-PCR; имуноблот анализ на фосфорилиране на PKC α ; конфокална микроскопия; sFCS (сканираща флуоресцентно корелационна микроскопия); липидна екстракция и газхроматографски анализ; ELISA за S1P; изчисляване на комбинационен индекс (CI). Прилагането на съвременни биофизични методи (Di-4-ANEPPDHQ, sFCS) за анализ на мембранната подреденост демонстрира висока методологична култура и задълбочена подготовка на докторанта.

5. Основни резултати и тяхната интерпретация

Част I – Ефект на еруфозин

Показано е дозо- и времезависимо инхибиране на клетъчната пролиферация при MDA-MB-231 и MCF-7, с по-изразен ефект при високоинвазивната линия

MDA-MB-231. Установени са: задържане в G2/M фаза; концентрационно зависима апоптоза; деструкция на цитоскелетни структури и намалена миграция; понижаване на липидната подреденост и повишена мембранна дифузия. За първи път е демонстрирана пряка връзка между промени в липидния състав и динамиката на мембраната и клетъчния цикъл/апоптоза при MDA-MB-231.

Част II – Комбинирана терапия HePC + DMS

Комбинацията HePC + DMS проявява изразен синергичен цитотоксичен ефект при клетки A549. Флоуцитометричният анализ показва значително индуциране на късна апоптоза при комбинирано третиране (до 66.11%). Наблюдава се: инхибиране на сигнални пътища, свързани със SK1 и PKC; понижаване нивата на S1P; активиране на вътрешния митохондриален път на апоптоза. Резултатите са добре аргументирани и статистически подкрепени.

6. Научни и приложни приноси

Приноси с оригинален характер

- Демонстрирана връзка между мембранна динамика и клетъчен цикъл при еруфозин.
- Доказан синергичен ефект на HePC и DMS при рак на белия дроб.

Приноси с приложен характер

- Показана висока селективност към туморни клетки спрямо нормални (MCF-10A, HUVEC).
- Очертани перспективи за включване в полимерни носители и *in vivo* изследвания.

7. Публикационна активност

Резултатите са публикувани в реномирани международни списания (Q1–Q3), включително *Biomolecules* (Q1) и *Chemico-Biological Interactions* (Q1). Публикационната активност напълно отговаря и надвишава минималните изисквания за присъждане на ОНС „доктор“.

8. Критични бележки

Дисертацията е изпълнена на високо научно ниво. Като препоръка може да се посочи възможността за допълнително разширяване на *in vivo* валидирането на резултатите, което обаче е предмет на бъдещи изследвания и не намалява научната стойност на настоящия труд.

9. Заключение

Дисертационният труд на Тихомира Тихомирова Стоянова представлява самостоятелно, оригинално и завършено научно изследване в областта на молекулярната биология и биофизиката. Резултатите от дисертационния труд са публикувани в три статии с общ импакт фактор 10.521, две публикации са в списания с Q1, а една е в издание с Q3. Общия импакт фактор на Тихомира значително надвишава изискванията за придобиване на образователната и научна степен „доктор“ според националните нормативни документи и правилника на ИБФБМИ.

Поставената цел е изпълнена. Получени са нови научни резултати с приносен характер, публикувани в международни издания. Докторантът демонстрира висока методологична подготовка, аналитично мислене и способност за интерпретация на сложни молекулни механизми. Въз основа на изложеното, убедено предлагам на уважаемото научно жури да присъди на Тихомира Тихомирова Стоянова образователната и научна степен „доктор“ в професионално направление 4.3 „Биологични науки“, научна специалност „Биофизика“.

Изготвил:



/проф. Ива Угринова/

25.02.2026 г.