

СТ А Н О В И Щ Е

от чл.-кор. проф. Нина Недева Атанасова, Институт по експериментална морфология, патология и антропология с музей при БАН, назначена със Заповед № НО-05-05-19 от 18.12.2025 г. на Директора на ИЕМПАМ-БАН проф. Светлозара Петкова

относно: защита на дисертационен труд за придобиване на ОНС „доктор“ от Христо Кънчев Христов, редовен докторант към Секция „Патология“ на ИЕМПАМ-БАН на тема „Антитуморна и антивирусна активност на новосинтезирани метални комплекси на Шифови бази и салиномицин и на модифицирани с 1,8-нафталимиди глюкозамини“, в Област на висше образование 4. Природни науки, математика и информатика, Професионално направление 4.3. Биологически науки, специалност „Вирусология“.

Темата на дисертационния труд на Христо Кънчев Христов „Антитуморна и антивирусна активност на новосинтезирани метални комплекси на Шифови бази и салиномицин и на модифицирани с 1,8-нафталимиди глюкозамини“ се отличава с висока актуалност, поради своето здравно, социално и демографско значение, произтичащо от увеличаване заболяемостта и смъртността от злокачествените новообразования, значителна част от които са пряко или косвено свързани с вирус-индуцирана карциногенеза. Разработване на високо ефективни и специфични антитуморни препарати е обект на обширни изследвания в областта на съвременната онкофармакология и по-конкретно на комплексни съединения на метали с биологично активни лиганди. Сред тях се открояват есенциалните елементи като мед, цинк, кобалт, манган, рутений, а като биологично-активни лиганди интересът е насочен към Шифовите бази и салиномицина, чиито комплекси са висок потенциал за приложение като антитуморни и антивирусни средства. Наред с тях, с висока надеждност се откроява хитозанът и неговите модификации при създаване на биосъвместими носещи системи за контролирано освобождаване на активните комплекси с антитуморно и антивирусно действие. В този контекст е разработен настоящият дисертационен труд, насочен към изясняване на редица въпроси, свързани със спектъра на цитотоксичност и антипролиферативна активност на тези съединения, техните потенциални механизми, включително индукция на апоптоза и промени в експресията на вирусни онкогени (v-myc, v-src). От тук логично е определен обектът на настоящата дисертация, които са новосинтезирани метални комплекси на Шифови бази, и на салиномицина с йони на есенциални метали (Zn, Cu, Co, Ru, Ni, Mn) и рутений, както и наноразмерни модификации на хитозана. Тяхната цитотоксична и потенциална антитуморна активност е изследвана при култивирани в лабораторни условия човешки и животински

туморни клетки, трансформирани с човешки папиломен вирус (HPV18), миелоцитоматозен вирус (Mc29, съдържащ гена v-myc) и саркомен вирус на Раус (RSV, съдържащ гена v-src).

Дисертационният труд е написан на 213 страници и е структуриран в обичайните раздели с преобладаване на собствени резултати и обсъждане. Христо Христов поставя две цели на своя труд, първата от които пряко кореспондира с обекта на дисертацията. За нейното изпълнение са формулирани 4 задачи, като задача 1 и 2 са няколко под-задачи. В синтезиран вид тези задачи визират определяне на цитотоксичната/потенциалната антитуморна активност на новосинтезираните метални комплексни съединения и модифицирани с 1,8-нафталимиди глюкозамини/хитозан (наночастици) върху трансформирани с вирус (птичи ретровируси, човешки папиломни вируси) туморни клетки и влиянието им върху репликацията на човешки херпес симплекс вирус (HSV). Втората цел е методологична и е свързана с разработване на *in vitro* клетъчна система за заразяване с вируса на хепатит Е (HEV) и поддържане на вирусната репликация.

За изпълнение на първата цел и съответните задачи са проведени обширни краткосрочни (монослойни) и дългосрочни (3D колонии) клетъчни култури на вирус-трансформирани туморни линии HeLa (човешки папиломен вирус HPV18), LSR-SF-SR (плъша, трансформирана с птичи саркомен вирус на Раус) и LSCC-SF-Mc29 (птичи миелоцитоматозен вирус Mc29). Цитотоксичността на новосинтезираните метални комплекси, приложени в различни концентрации, е определяна въз основа на преживяемостта на клетките посредством МТТ тест, оцветяване с кристалвиолет и неутрално червено. Изпитваните вещества са подредени в йерархични последователности, отразяващи цитотоксичната им активност. Добро впечатление прави, че същият методологичен подход е приложен при определяне на цитотоксичната активност на хитозана и неговите модификации, като в допълнение на това е изследвано и влиянието им върху разпределението на клетките във фазите на клетъчния цикъл, способността им да предизвикват апоптоза и да променят митохондриалния потенциал. Освен това е изследван и антивирусния ефект на хитозана върху Herpes simplex virus -1 и 2. Хистопатологичната картина е визуализирана с двойно оцветяване с акридин оранж-пропидиев йодит.

В обобщен план отделните метали проявяват различна цитотоксичност спрямо различните клетъчни линии и в зависимост от използвания лиганд, което демонстрира известна специфичност към вида на онковирусната трансформация. Например сред металните комплекси с Шифовата база SALTIAZ с най-висока цитотоксична активност върху 2D културите изпъкват комплексите на Zn (за HeLa) и Cu (за LSR-SF-SR), което се установява и

при 3D култури на HeLa, докато при плъщите саркомни клетки от линия LSR-SF-SR най-токсичен е комплексът на Ru. При Шифова база L комплексът с Mn е най-способен да подтиска 3D растежа на туморните клетки. Клетъчна линия LSR-SF-SR се оказва най-чувствителна към металните комплекси на Шифова база V, в сравнение с HeLa клетките, а те от своя страна са най-чувствителни към комплексите на салиномицина с мед, цинк и кобалт..

По-съвременен подход в онкофармакологията е разработване на вещества, способни да повлияват митохондриалната функция и окислително-редукционния баланс на клетките, да взаимодействат с нуклеинови киселини и белтъци. В този аспект, дисертантът логично се е насочил към хитозана и неговите модификации. В групата на модифицираните с 1,8-нафталимиди глюкозамини, най-висока цитотоксична и генотоксична (двойноверижни скъсвания в ДНК молекулата) активност проявява Ch-1, който напълно потиска митохондриалния потенциал (митотоксичност) в третираните клетки. Цитотоксичният им ефект значително отстъпва на този на металните комплекси с Шифови бази и използваните като контроли антитуморни препарати. Оказва се, че хитозанът и неговите модификации не повлияват репликацията на херпесните вируси.

В хода на работата по дисертационния труд дисертантът е разработил и въвел в лабораторната дейност клетъчна моделна система за продължително култивиране на хепатит E вирус. Независимо, че тя няма пряко отношение към изпълнение на целта на дисертацията, тази моделна система може да бъде полезна при бъдещи проучвания върху потенциалния онкогенен ефект на този вирус и изпитването на антивирусни агенти.

Въз основа на получените резултати са изведени 6 извода. Формулирани са 3 оригинални научни приноса за антитуморното действие на новосинтезираните метални комплекси с Шифови бази и салиномицин, както и за цитотоксичния, генотоксичния и минотоксичен потенциал на четири модификации с 1,8-нафталимиди на хитозана. Два приноса са с научно-приложен характер – оптимизиране на комплексен подход за изучаване на цитотоксичната активност на модифицираните с 1,8-нафталимиди глюкозамини при вирус-трансформирани туморни клетки; разработване на клетъчна моделна система за продължително култивиране на хепатит E вирус.

В края на дисертацията са посочени резултати от изследвания върху съдържанието на метали в яйца от различни системи за производство в Румъния. Поради тяхната отдалеченост от темата на труда, не намирам за необходимо да ги анализирам.

Представените данни в дисертацията се публикувани в две статии, от които едната е обзорна, като и двете статии вече имат цитирания. Трета публикация е в процес на рецензиране.

Като забележка бих отбелязала начина на представяне на раздел „Резултати и обсъждане“. Независимо, че трудът е богато илюстриран с 58 таблици и 73 фигури (графики и множествени микроснимки), самите резултати са описани като текст под фигурите, а дискусиата е твърде лаконична.

Заключение: Дисертационният труд на Христо Христов се отличава с висока актуалност. Той представлява оригинално изследване на автора с теоретична и практическа стойност за туморната биология, онкофармакологията и вирусологията. Извършена е голяма по обем изследователска работа, от която са получени оригинални и научно-приложни приноси. Характеризирана е антитуморната и антивирусна активност на редица новосинтезирани комплексни съединения, потенциални кандидати за приложение в клиниката. Намирам, че обемът и качеството на труда покрива критериите на ЗРАСРБ и съответните правилници за неговото приложение.

Във връзка с гореизложеното, независимо от критичните бележки, давам положителна оценка на дисертационния труд на тема „Антитуморна и антивирусна активност на новосинтезирани метални комплекси на Шифови бази и салиномицин и на модифицирани с 1,8-нафталимиди глюкозамини“ с автор Христо Кънчев Христов и препоръчвам на почитаемото Научно жури да гласува положително за присъждане на ОНС „доктор“ на Христо Кънчев Христов в Област на висше образование 4. Природни науки, математика и информатика, Професионално направление 4.3. Биологически науки, специалност „Вирусология“

16.02.2026

Изготвил:



Чл.-кор. проф. Нина Атанасова