

## СТАНОВИЩЕ

от проф. дхн Елена Димитрова Милева, ИФХ-БАН,  
член на Научно жури за защита на дисертационен труд  
за получаване на образователната и научна степен „доктор”

**Автор на дисертационния труд:** Светлана Христова Христова, редовен докторант,  
секция „Повърхности и колоиди”, Институт по физикохимия, БАН

**Тема на дисертационния труд:** ЕЛЕКТРИЧЕСКИ СВОЙСТВА И АНТИРАКОВО ДЕЙСТВИЕ НА ЦИТОХРОМ С,  
АДСОРБИРАН ВЪРХУ КОЛОИДНИ ЧАСТИЦИ ОТ МОНТМОРИЛОНИТ

**Направление:** 4.2.Химически науки (Физикохимия)

Дисертационният труд на докторант Светлана Христова Христова представлява комплексно физикохимично изследване на колоидна система, която има значителен потенциал за приложение при лечение на определени видове онкологични заболявания. Една от основните идеи в тази приложна област на колоидната химия е хипотезата, че ако в раковата клетка клетката се вкара подходящ агент, то апоптозата се задейства и раковата клетка загива. В дисертацията се предлага това да става чрез фагоцитоза на колоидни частици с адсорбиран върху тях подходящ белтък.

Изследванията са фокусирани върху свойствата на водоразтворимия глобуларен хемопротеид Цитохром С (cytC), който присъства във всички живи организми и участва активно във верига от биохимични реакции, която елиминира функционално-неактивни и повредени клетки. Общата идея на представената работа е да се предложи ефективна възможност за внасяне в ракови клетки, на подходящи по свойства и размер колоидни частици с адсорбиран върху тях cytC. Като колоиден носител са определени колоидни частици от глинестия минерал монтморилонит (ММ), с ясно дефинирани геометрични и физикохимични характеристики. По принцип, подобни изследвания са много актуални и важни за развитие на диагностични и терапевтични методи в хуманната медицина. В този смисъл, подборът на компонентите в предлагания течен състав е много добре аргументиран и убедително защитен с получените от докторантката резултати.

Специфичната цел дисертационния труд е систематичното изучаване на адсорбцията на cytC върху колоидни частици от ММ и определяне на електричните свойства на получените комплекси. Проучени са възможностите за ефективен контрол върху условията за образуване на ММ-cytC комплексите в зависимост от състава на разтвора и от допълнителни условия в течната среда; получени са обнадеждаващи експериментални свидетелства за антираково действие; очертани са възможности за по-нататъшното медицинско приложение на изследваните системи.

Дисертантката познава отлично състоянието на проблема в научната литература. Цитирани са 226 източника, повечето от които са анализирани в Глава 1 (Литературен обзор) и Глава 2 (Материали и методи). Въведени са последователно всички основни понятия, модели и подходи, внимателно са анализирани възможностите на използваните разнообразни техники за получаване и охарактеризиране на комплекса ММ-cytC. Специално искам да отбележа аргументираното и точно описание на обекта на изследване, мотивацията за избор на този обект и използваните методики, много ясното поставяне на целите и задачите на изследването в контекста на добре подбрания литературен обзор.

Резултатите от изследователската работа на Светлана Христова са предствени в Глави 4-6. Дадено е прецизното описание на проведените изследвания, съчетано с кратка мотивация за всеки тип използвана методика, както и подробно тълкуване на получените експериментални данни. В този смисъл, дисертационният труд представлява единно и много добре организирано изложение на важен научен проблем и подходите за неговото решаване, като съдържа и ясно формулирани резултати.

Основните научните постижения в представената дисертация, според мен, са следните:

1. С методите на белтъчна електростатика е изчислен нетния заряд на глобуларния белтък cytC. Определена е областта от рН-стойности (рН 6–8), която е подходяща за електростатична адсорбция върху отрицателно заредената повърхност на глинестия минерал монтморилонит (ММ).

2. Експериментално е показано че, при рН 6 положително заредените белтъчни глобули се адсорбират върху отрицателно заредените ММ пластинки, като сумарният заряд на получения комплекс става положителен. Точката на презареждане е при съотношение 1:1 на тегловите концентрации, а наситена адсорбция се наблюдава над 10:3 сyтС:ММ в суспензията. Установено е, че в широк интервал от концентрации на белтъка адсорбцията върху ММ пластинки е наситена и монослойна. Предполага се, че няма повърхностната агрегация на белтъчните глобули поради ниската йонна сила в отсъствието на буфери и индиферентни електролити. Това е един нов научен резултат, който модифицира досегашните представи относно условията за достигане на наситена адсорбция в подобни системи.

3. Експериментално е установено е, че определените с микроелектрофореза и електрическо светоразсейване изослектрични точки (ИЕТ) на сyтС-ММ колоидните частици почти съвпадат с ИЕТ на свободен сyтС. Този резултат дава възможност да се предположи, че белтъчните глобули са неориентирани върху повърхността на ММ.

4. Проведени са експерименти, които показват, че сyтС, адсорбиран върху ММ колоидни частици, предизвиква почти пълна гибел на клетъчна култура от метастазирал рак на дебело черво. Установено е, че цитотоксичният ефект е с 1/3 по-висок от досега описания в литературата и с други колоидни частици-преносители на сyтС. Този резултат е обнадеждаващ с оглед на евентуално по-нататъшно терапевтично приложение на така подбраната колоидна суспензия.

Научните приноси на дисертационния труд са със значителна степен на новост и представляват в завършен вид систематично и грижливо проведено експериментално изследване на условията и възможностите за контрол върху важни свойства на колоидни частици, които представляват комплекс от монтморилонит и адсорбиран върху тях цитохром С. Тези приноси могат да се определят като получаване на нови факти и доказване с нови средства на съществени нови страни в съществуващи научни и научно-приложни проблеми. Като цяло получените в тази дисертация резултати са ефектно доказателство за специфичните възможности на използваните методи на колоидната химия при изследване на биозначими проблеми и откриване на нови насоки за терапевтични приложения в хуманната медицина.

Дисертацията се основава на четири статии които са публикувани в международни научни списания: J Colloid Interface Sci. 446 (IF 5.091, Q1), две в *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* (IF 3.997, Q1) и една в *Compt. Rend. BAS* (IF 0.27); и в четирите дисертантката е първи автор. Работите са излезли от печат през 2015 г. (1) и 2019 г. (3). По тези публикации досега са забелязани 8 цитати. Получените резултати са представяни като 9 устни доклада и 14 постерни презентации на международни и национални научни форуми; доладвани са и 8 пъти пред Колоквиум „Алексей Шелудко“ в ИФХ-БАН. Вън от материалите по дисертацията, докторантката е съавтор в още четири публикации (2 от 2009г. и 2 от 2018 г.; първи автор в 2 от тях). Две от тези статии също са в списания с IF и SJR (*Biotechnol. and Biotechnol. Eq.*, IF 1.227, Q3; *Bulgarian Medical Society of Hematology*, SJR 0.1), като по тях има допълнителни 2 цитата. Познавам добре Светлана Христова от постъпването ѝ като докторант в Секция „Повърхности и колоиди“. Тя отлично се представи на изпита по „Комплексни течности“ и нееднократно, ясно, стегнато и компетентно, докладва своите резултати пред Колоквиум „Алексей Шелудко“. Въз основа на предоставените материали по защитата и на личните ми впечатления от работата на докторантката, мога обосновано да твърдя, че приносите в дисертационния труд са в основна степен нейно лично дело.

Въз основа на гореизложеното считам, че предложеният дисертационен труд напълно удовлетворява всички изискванията на ЗРАСРБ и на Правилника за условията и реда за придобиване на научни степени и за заемане на академични длъжности в ИФХ-БАН. С пълна убеденост препоръчвам на Почитаемото Научно жури да присъди на докторант Светлана Христова Христова образователната и научна степен „доктор“ в професионално направление 4.2. „Химически науки“ (Физикохимия).

31 май, 2019 г.  
София

(проф. дхн Елена Милева)