

СТАНОВИЩЕ

от проф. д-р Петко Пенков Маринов, д.м.
Катедра „Фармакология, токсикология и фармакотерапия“
Декан на Факултет по фармация, Медицински университет – Варна

Относно: процедура за придобиване на образователна и научна степен „Доктор“ с кандидат маг. фарм. Станила Серьожева Стоева

Със заповед № Р-109-50/15.02.2021 г. на Ректора на Медицински университет - Варна, въз основа на решение на Факултетния съвет при Факултет „Фармация“ по Протокол № 13/08.02.2021 г. съм избран за член на Научно жури, а на основание Протокол №1/25.02.2021 г. съм определен да изготвя становище по процедура за придобиване на образователна и научна степен „Доктор“ с кандидат маг. фарм. Станила Серьожева Стоева.

Тема: „Нови аспекти в течнохроматографския анализ на Caracitabine в проби от биологичен и небологичен произход“

Област на висшето образование: 7. „Здравеопазване и спорт“

Професионално направление: 7.3. „Фармация“

Научна специалност: „Токсикология“

Научни ръководители: проф. д-р Петко Пенков Маринов, д.м и доц. Антоанета Здравкова Цветкова, д.и.

Форма на докторантурата: редовна форма на обучение

Катедра: „Фармакология, токсикология и фармакотерапия“, Факултет по фармация, Медицински университет – Варна

Процедурата по конкурса е спазена и е в съответствие с изискванията на Закона за развитие на академичния състав в Република България, Правилника за неговото приложение и Правилника за развитието на академичния състав в Медицински университет – Варна.

Биографични данни и професионална квалификация:

Маг. фарм. Станила Серьожева Стоева е родена през 1992 г. в гр. Силистра. През 2011 г. завършва средното си образование в ПМГ „Св. Климент Охридски“, гр. Силистра, профил биология и химия. През 2012 г. започва обучението си във Факултета по фармация към Медицински университет „Проф. д-р Параскев Стоянов“, гр. Варна. Дипломира се през 2017 година с отличен успех. От следващата година е назначена като магистър фармацевт, анализ на лекарствени продукти в катедра „Фармакология, токсикология и фармакотерапия“, Факултет по фармация, Медицински университет – Варна. Работила е като стажант в болнична аптека и в аптека от открит тип като студентка по фармация. От 2019 г. работи допълнително като магистър-фармацевт в аптека от открит тип. От 2018 г. е докторант в редовна форма на обучение по специалност „Токсикология“ в катедра „Фармакология, токсикология и фармакотерапия“, Факултет по фармация, Медицински университет – Варна. Същата година започва специализация по „Фармакология и фармакотерапия“. До момента Станила Стоева е първи автор или съавтор в 9 публикации. Съавтор е в „Ръководство по токсикология за студенти по фармация“. Участва в 5 научни проекта, финансирани от фонд „Наука“ към Медицински университет „Проф. д-р Параскев Стоянов“ гр. Варна. Има 7 награди при участия в научни конференции.

Актуалност на темата:

Онкологичните заболявания заемат едно от водещите места при социално значимите заболявания на нашето съвремие с 18,1 милиона новорегистрирани случая годишно и 9,6 милиона починали през 2018 г. Според Международната агенция за изследване на рака, в

следващите 20 години броят на заболялите ще нарастне с около 60 %, поради устойчивото увеличаване и застаряване на световното население. Във връзка с това се предвижда, че до 2040 г. делът на пациентите, изискващи прием на антинеопластици ще се повиши със средно 53%, въпреки разработените към днешна дата по-селективни терапии. В хода на лечението на онкологичните заболявания нерядко се регистрират токсични прояви от страна на прилаганите цитостатици, които налагат преустановяване на лечението с тях. Подобни прояви се наблюдават и при лечение с Capecitabine (CAP), който е пролекарствена форма на 5-Fluorouracil (5-FU). Биомониторирането им може да предотврати в голяма степен техните нежелателни лекарствени реакции. За биомониториране на CAP и/или неговите метаболити, метод на първи избор се явява високоефективната течна хроматография. С нейна помощ могат да се установят реалните плазмени концентрации на медикаментите при пациентите, възможното замърсяване с тях на работната среда, както и съдържанието на активното вещество в готовите лекарствени форми, гарантиращи адекватно лечение.

Структура на дисертационния труд

Дисертационният труд съдържа 166 страници. Онагледен е с 24 таблици, 36 фигури и 2 приложения. Литературният обзор включва 313 източника, от които 4 са на български език и 309 са на латиница. Дисертационният труд е структуриран, съобразно класическия модел и включва: Съдържание и използвани съкращения – 7 страници; Въведение – 3 страници; Литературен обзор – 45 страници; Цел и задачи – 2 страници; Материал и методи – 19 страници; Собствени резултати – 23 страници; Обсъждане на резултатите – 32 страници; Изводи – 3 страници; Приноси – 1 страница; Приложения – 2 страници; Библиография – 25 страници; Публикации, свързани с дисертационния труд – 2 страници; Участие в научен проект, свързан с дисертационния труд – 1 страница; Благодарности – 1 страница;

Въведение

Лечението на злокачествени заболявания се явява сериозно предизвикателство за съвременната система на здравеопазване. Доказателство за това е драстичният ръст на заболяемостта и смъртността вследствие на рак в глобален мащаб, съответно с 44% и с 26 %. От друга страна, през последното десетилетие преживяемостта на онкологично болните пациенти, приемащи цитостатично лечение, е повишена с едва 14 %. Причина за недостатъчно удовлетворителните резултати е липсата на селективно цитотоксично действие, както и тясната терапевтична ширина на антинеопластиките. Налице е висока честота на лекарство-индуцирана токсичност, която може да бъде животозастрашаваща, да налага преустановяване на лечението, а също и прием на допълнителни лекарства.

Повече от половин век флуоропиримидиновият клас цитостатици е крайъгълен камък в лечението на злокачествени заболявания, като колоректален карцином, рак на гърдата, рак на стомаха, рак на панкреаса, рак на яйчниците, карцином на главата и шията. Техен представител е антинеопластикът Capecitabine, рационално проектиран като орална пролекарствена форма на венозно вливания 5-Fluorouracil. Със създаването му се цели постигане на насочено противотуморно действие, повишаване цитостатичната активност и редуциране на токсичността на активното вещество спрямо здравите клетки на организма. Въпреки това, по аналогия с останалите антинеопластици, пролекарството крие известни рискове за здравето на пациентите. Установено е, че при около 94 % от всички индивиди, приемащи CAP е регистрирана появата на поне една нежелана лекарствена реакция. Съществува хипотеза, според която селективното инхибиране на ензима carboxylesterase (отговорен за пусковия стадий на активиране) в GI тракт следва да редуцира извънтуморното получаване на 5-FU. В резултат се очаква подобряване профила на безопасност и увеличаване ефективността на CAP. За целта е необходимо разработването на чувствителен и надежден аналитичен метод, позволяващ детектирането на минимални количества от целевите аналити в биологични проби. Що се отнася до биомониторирането на CAP и/или неговите метаболити, метод на първи избор се явява високоефективната течна хроматография, предшествана от подходяща процедура за

пробоподготовка. В качеството си на антинеопластик САР следва да бъде анализиран и от друга токсикологична гледна точка. В края на XX век става известно, че риск от възникване на лекарство-индуцирани нежелани събития съществува не само при раково болните пациенти, но и при здравите индивиди, изложени на хронична цитостатична експозиция в професионални условия. Още един важен аспект на течнoхроматографския анализ е възможността за установяване на качествения и количествения състав на активните вещества в готови лекарствени форми. Ето защо разработването на течнoхроматографска методика за качествено и количествено определяне на САР в лекарствени форми е повече от необходимо средство за гарантиране безопасността на пациентите, в духа на водената към днешна дата в цял свят борба с фалшивите лекарства.

Литературен обзор

В тази глава докторантът задълбочено разглежда актуалните данни относно разпространението на раковите заболявания и употребата на цитостатични лекарства в световен мащаб, основните принципи и токсични аспекти на съвременното цитостатично лечение. Подробно е проучена употребата на САР, неговите терапевтични възможности и токсични прояви. Извършен е критичен анализ на докладваните течнoхроматографски методи за качествено и количествено определяне на САР в проби от биологичен и необиологичен произход.

Литературният обзор е написан на 45 страници, илюстриран е с 6 фигури и 4 таблици. Той е извършен и структуриран прецизно и коректно. Представените изводи от литературния обзор обосновават категорично дисертационността на темата.

Цел и задачи

Целта на предствения дисертационен труд е да се разработят течнoхроматографски методи за анализ на САР и неговия първи метаболит (5-DFCR) в плазмени проби от експериментални животни, проследяване повърхностното замърсяване с цитотоксичния агент САР в професионални условия и качествено и количествено определяне на САР в таблетни лекарствени форми. За решаване на целта са поставени 3 задачи, свързани с разработване и апробиране на селективни течнoхроматографски методи за определяне на САР.

Целта и задачите са конкретни и правилно формулирани.

Материали и методи

За разработването на HPLC методи за определяне на САР и 5-DFCR са използвани високоефективна течна хроматографска система Thermo Scientific UltiMate 3000 Analytical LC System (USA), снабдена с кватернерна помпа (Thermo Scientific Dionex UltiMate 3000 LPG-3400SD Quaternary Pump, USA), автоматичен инжектор (Thermo Scientific Dionex UltiMate 3000 Autosampler, USA), вариабилен UV/VIS детектор (Thermo Scientific Dionex UltiMate 3000 VWD-3100 Variable Wavelength Detector/VWD, USA) и детектор на диодна матрица (Thermo Scientific Dionex UltiMate 3000 DAD3000 Diode Array Detectors, USA).

Проведен е експеримент с 48 броя мъжки Icr Albino мишки (на възраст 7-9 седмици, с тегло 25-30 g), предоставени от Институт по експериментална морфология, патология и антропология с музей при Българска академия на науките. Процедурите по третиране на животните и провеждането на експериментите са извършени в съответствие с националните закони (Наредба № 20 от 01.11.2012 г. за минималните изисквания за защита и хуманно отношение към опитните животни и изискванията към обектите за използването, отглеждането и/или доставката им, в сила от 01.01.2013 г., издадена от Министерство на Земеделието и храните, Обн. ДВ бр. 87 от 09.11.2012г.) и международните изисквания (ЕЕС Directive 86/609 от 1986 г.), съобразно Институционално ръководство № РД-09-27/21.05.2019 г. за експерименти с животни на Институтът по експериментална морфология, патология и антропология с музей при Българска академия на науките и разрешение на Българската агенция по безопасност на храните № 96. Статистическата обработка на резултатите е извършена с помощта на

софтуеърен пакет Microsoft Excel® 2016.

Използваните методи спомагат и позволяват решаването на поставените цел и задачи.

Резултати и обсъждане:

В тази глава от дисертационния труд, докторантът е разработил три течнохроматографски метода:

- за качествено и количествено определяне на САР и 5-DFCR в проби от миша плазма
- за количествено определяне на професионалната експозиция с САР
- за определяне на качествено и количественото съдържание на САР в състава на таблетни лекарствени форми

Предложено е оптимизиране на пробоподготвителния етап, както и на течнохроматографския аналитичен етап. Проверена е аналитичната надежност на течнохроматографските методи и те са апробирани.

Прилагането на токсикохимичните методи за анализ в полето на онкологията може да доведе до редица здравни ползи, като: повишаване ефективността на противотуморната терапия; оптимизиране плътността на дозовия режим; предотвратяване застрашаващи здравето и живота на пациента токсични ефекти. Предложеният метод има потенциала да допълва мерките за безопасност на работното звено, предвид възможността за обективна оценка на установените хигиенни и предпазни мерки. Представеният течнохроматографски метод може да бъде част от изпитвания за биоеквивалентност, мониториране количеството на САР в процеса на съхранение, както и при съмнение за произхода на продукта.

Изводи:

Направените от докторанта изводи във връзка с разработените три течнохроматографски метода са логичен завършек на резултатите от дисертационния труд.

Приноси:

Въз основа на дисертационния труд Станила Стоева извежда и формулира 2 групи приноси, които напълно одобрявам. Първата група е с оригинален научен и научно-приложен характер - разработен и валидиран HPLC базиран модел, насочен към определянето на субстрата и продукта на ензима CES при експериментални животни, третирани с САР; доказва се влиянието на вакутейнерния антикоагулант върху аналитичния добив на пролекарството и неговия метаболит 5-DFCR; поставени са основите за бъдещи предклинични изследвания, с помощта на които би могло да се провери потенциала на селективни CES2 природни и лекарствени инхибитори да редуцират САР-обусловената ГИ-токсичност; разработен и валидиран HPLC метод за качествено и количествено определяне на САР в състава на смивни проби от работна среда; разработен и валидиран е алтернативен HPLC метод за качествено и количествено определяне на САР в състава на лекарствени форми;

Втората група приноси са с потвърдителен характер – потвърдена е ефикасността на ПП в подготовката на биологични проби от експериментални животни, третирани с САР; потвърдено е, че течнохроматографските методи за определяне на САР и/или неговите метаболити в състава на биологични и небιологични проби притежават необходимата висока аналитична надеждност

Тези приноси обогатяват познанията за прилагането на течнохроматографските анализи в онкологичната практика у нас и имат определен научно-практически характер.

Публикационна активност:

Авторът представя 3 пълнотекстови публикации във връзка с дисертационния труд, едната от които е в научно списание с импакт фактор. Във всички тях, тя е първи автор, което доказва личния принос на дисертанта при разработване на настоящата дисертация. Допълнително е представен списък с участия на седем национални и международни научни форуми, свързани с дисертационния труд. В шест от тях дисертантът е първи автор. Докторантът участва и в един

научен проект във връзка с дисертационния труд, финансиран от фонд „Наука“ към МУ – Варна.

Авторефератът съдържа 95 страници. Илюстриран е с 30 фигури, 20 таблици и 2 приложения. Той е изготвен съгласно изискванията и отговаря напълно на целите, задачите и резултатите в дисертационния труд.

Заклучение: Дисертационният труд на тема „Нови аспекти в течнохроматографския анализ на Сареситабин в проби от биологичен и небиологичен произход“ е актуален и третира важен интердисциплинарен проблем в областта на фармакологията, аналитичната токсикология и онкологията. Представеният труд напълно отговаря на изискванията на Закона за развитие на академичния състав в Република България, Правилника за неговото приложение и Правилника за развитието на академичния състав в Медицински университет - Варна и заложените в него критерии за ОНС „Доктор“. Ето защо давам своята положителна оценка и препоръчвам на уважаемите членове на Научното жури да гласуват положително за защитата на дисертационния труд и да присъдят на маг. фарм. Станила Серьожева Стоева образователната и научна степен „Доктор“ в област на висшето образование 7. Здравеопазване и спорт, професионално направление 7.3. „Фармация“ по научна специалност „Токсикология“.

22.03.2021 г.
гр. Варна

Проф. д-р Петко Маринов, д.м.

