



СТАНОВИЩЕ

От проф. д-р Юлиан Руменов Ананиев, дм
Декан на Медицински Факултет, Тракийски Университет,
Професор в Катедра по обща и клинична патология, съдебна медицина и деонтология, и
дерматовенерология

Относно: дисертационен труд за за присъждане на образователна и научна степен

„ДОКТОР“

На Десислава Петрова Анкова

С тема на дисертацията: **”КЛЕТЪЧНО-СПЕЦИФИЧНА ЛОКАЛИЗАЦИЯ И ГЕННА
ЕКСПРЕСИЯ НА MAS1R, CD10, ACE, ACE2, KISS1 И KISS1R ПРИ ЖЕНИ С
ТУМОР НА МЛЕЧНАТА ЖЛЕЗА“**

по научна специалност: „Физиология на животните и човека“
професионално направление - 4.3. – „Биологически науки“

Научен ръководител: *доц. д-р Павел Рашев, дбн*

Кратки данни за докторанта.

Асистент Десислава Анкова е родена през 1986 г. През 2009 г. получава своята бакалавърска степен в Катедра Биотехнологии на Химикотехнологичния и металургичен университет в гр. София, а година по-късно и магистърска степен в същия университет. От 2012 г работи в Институт по Биология и Имунология на Размножаването „Акад. Кирил Братанов” – София, Българска Академия на Науките, а от 2018 г е Асистент в секция „Имунобиология на размножаването”, както и специалист – биолог.

Описание, актуалност и значимост на темата. Дисертационният труд на Десислава Петрова Анкова представлява синтез и разглеждане на един основен и актуален проблем в съвременната диагностична и експериментална онкопатология. Трудът се състои от: въведение, литературен обзор, цел и задачи, материали и методи, резултати и дискусия, изводи, заключение, литература и приложения.

В началото дисертационният труд започва с кратко въведение, в което асистент Анкова дефинира значението на редица молекулни маркери и методите на тяхното изследване, като основен момент при диагностицирането и проследяването на заболяванията на гърдата при жената и в частност – карциномът на млечната жлеза. Следва преглед на литературата достъпна до дисертантката, където тя поетапно проследява и описва данните свързани с: дефиницията, класификацията и някои хистологични характеристики на туморите на гърдата; компонентите и механизмите на действие на ренин-ангиотензиновата система (RAS), както и участието и в онкогенезата и прогресията на заболяването; диагностичната стойност на някои от протеините в системата, а също и тази на киспептините и техните рецептори при различни злокачествени заболявания в човешката популация и с акцент отново върху рака на гърдата.

Целта на дисертацията е да бъде проследена клетъчно-специфичната локализация на Mas1R, CD10, ACE, ACE2, KISS1 и KISS1R и генната им експресия в околна нетуморна тъкан и тумори на млечната жлеза при жени. На базата на така формулираната цел ас. Анкова си поставя общо шест **задачи**, както следва: да събере и обработи свеж оперативен материал от туморна и околна нетуморна тъкан; хистопатологично да типизира туморите и оцени тяхната степен на диференциация; да извърши имунохистохимичен анализ на клетъчно-специфичната локализация на Mas1R, CD10, ACE, ACE2, KISS1 и KISS1R в туморна и околна нетуморна тъкан; да изолира тотална РНК от оперативен материал; да извърши RT-PCR за изследване генната експресията на гените mas1, пер, асе, асе2, kiss1 и kiss1r и референтните гени gapdh и pcbp1; да извърши статистическа обработка на получените резултати.

В представените **методи и материали** дисертантката обхваща изследване на материали от пациентки диагностицирани и лекувани в периода 2009-2015г. и 2019-2020 г. в два големи центъра в гр. София. Представени са използваните реактиви, описани са методите за получаване, обработка и протоколите при провеждането на оцветяванията, ИХХ изследвания, RT-PCR изследванията, както и обработката и начина на отчитане на данните. За обработка, систематизиране и анализ на получените данни са използвани статистически анализи и софтуерна програма GraphPad Prizm5.

В главата **Резултати и дискусии**, представените данни следват логически поставената цел и задачи, като в началото ас. Анкова представя резултати от класифицирането на туморите, **ИХХ** експресия на всички определени за изследване моно/поликлонали, както и корелациите с някои от характеристиките (грейдинг) на туморите и помежду им; демонстрирани са и данни за протеиновата експресия и нивата на ACE, KISS1 и на KISS1R mRNA, като отново са сравнени локализациите и нивата на експресия.

Асистент Анкова формулира 6 извода свързани с експесиите на CD 10, Mas1R, ACE, ACE mRNA, KISS1 и KISS1R, като дава заключение за тяхната роля в диференциацията, прогресията и метастазирането на изследваните тумори.

Представени са още три научни публикации, пет участия в научни форуми, както и участия в два научни проекта.

Дисертационният труд е написан на общо 199 страници и е онагледен с 18 фигури и 3 таблици. Библиографията включва 255 литературни източника, един от които е на български език.

Въз основа на по-горе изложеното считам, че дисертационният труд представлява **завършена научна разработка със сигнификантни резултати и изводи.**

Давам своята положителна оценка и ще гласувам „За“ присъждане на ОНС „доктор“ на Десислава Петрова Анкова в професионално направление 4.3. „Биологични науки“, научна специалност „Физиология на животните и човека“, като призовавам и останалите членове на уважаемото Научно жури да я подкрепят.

04.09.2023
Стара Загора

Проф. д-р Юлиан Руменов Ананиев, дм

Институт по биология и
имунология на
размножаването - БАН
Вх. №. 361-40/01.09.23

SHORT ACADEMIC REVIEW

Prof. Yulian Rumenov Ananiev, MD, PhD

Dean of the Medical Faculty, Trakia University,

Professor in the Department of General and Clinical Pathology, Forensic Medicine and
Deontology, and Dermatovenereology

Subject: PhD-thesis for the award of an educational and scientific degree

"PhD"

To **Desislava Petrova Ankova**

PhD Thesis: **"CELL-SPECIFIC LOCALIZATION AND GENE EXPRESSION OF
MAS1R, CD10, ACE, ACE2, KISS1 AND KISS1R IN WOMEN WITH BREAST
TUMOR"**

in scientific specialty: "Animal and human physiology"

4.3. – "Biological Sciences"

Scientific supervisor: **Associate Professor Pavel Rashev, PhD**

Brief details of the PhD student.

Assistant Desislava Ankova was born in 1986. In 2009, she received her bachelor's degree at the Department of Biotechnology of the University of Chemical Technology and Metallurgy in Sofia, and a year later - master's degree at the same university. Since 2012, she has been working at the Institute of Reproduction Biology and Immunology "Acad. Kiril Bratanov" - Sofia, Bulgarian Academy of Sciences, and since 2018 she is an Assistant in the "Immunobiology of reproduction" section, as well as a specialist - biologist.

Description, relevance and importance of the topic. Desislava Petrova Ankova's thesis is a synthesis and consideration of a major and current problem in modern diagnostic and experimental oncopathology. The thesis consists of: introduction, literature review, aim and tasks, materials and methods, results and discussion, conclusions, conclusio, literature and appendices.

At the beginning, the PhD-thesis begins with a short introduction, in which assistant professor Ankova defines the importance of a number of molecular markers and the methods of their research, as a key moment in the diagnosis and follow-up of breast diseases in women, and in particular, breast carcinoma. The following is a review of the literature available to the PhD student, where she step-by-step tracks and describes the data related to: the definition, classification and some histological characteristics of breast tumors; the components and mechanisms of action of the renin-angiotensin system (RAS), as well as the involvement in oncogenesis and disease progression; the diagnostic value of some of the proteins in the system and also that of kisspeptins and their receptors in various malignancies in the human population and with emphasis again on breast cancer.

The **aim of the thesis** is to trace the cell-specific localization of Mas1R, CD10, ACE, ACE2, KISS1 and KISS1R and their gene expression in surrounding non-tumor tissue and breast cancers in women. Based on the goal formulated in this way, Assistant Professor Ankova sets herself a total of six tasks, as follows: to collect and process fresh surgical material from tumor and surrounding non-tumor tissue; to describe histopathologically type the tumors and evaluate their grade of differentiation; to perform immunohistochemical analysis of the cell-specific localization of Mas1R, CD10, ACE, ACE2, KISS1, and KISS1R in tumor and surrounding non-tumor tissue; to isolate total RNA from operational material; to perform RT-PCR gene expression of the genes *mas1*, *nep*, *ace*, *ace2*, *kiss1* and *kiss1r* and the reference genes *gapdh* and *pcbp1*; to carry out statistical processing of the obtained results.

In the presented methods and materials, the student examines materials from patients diagnosed and treated in the period 2009-2015 and 2019-2020 in two large centers in Sofia. The reagents used are presented, the methods of obtaining, processing and the protocols for carrying out the stainings, IHC studies, RT-PCR studies, as well as the processing and the way of reporting the data are described. Statistical analyzes and GraphPad Prizm5 software program were used for processing, systematization and analysis of the obtained data.

In the **Results and Discussions** chapter, the presented data follow the logically set goal and tasks, and at the beginning, Assistant Professor Ankova presents results from the classification of the tumors, IHC expression of all mono/polyclonal antibodies determined for the study, as well as the correlations with some of the characteristics (grading) of the tumors and between them; data on protein expression and levels of ACE, KISS1 and KISS1R mRNA are also shown, again comparing localizations and expression levels.

Assistant Ankova formulated 6 conclusions related to the expression of CD 10, Mas1R, ACE, ACE mRNA, KISS1 and KISS1R, giving a conclusion about their role in the differentiation, progression and metastasis of the studied tumors.

Three more scientific publications, five participations in scientific forums, as well as participation in two scientific projects are presented.

The PhD-thesis is written on a total of 199 pages and is illustrated with 18 figures and 3 tables. The bibliography includes 255 literary sources, one of which is in Bulgarian.

Based on the above, I believe that the **PhD-thesis work represents a complete scientific development with significant results and conclusions.**

I give my positive assessment and will vote "Positive" the awarding of the ESD "PhD" to Desislava Petrova Ankova in professional direction 4.3. "Biological Sciences", scientific specialty "Animal and Human Physiology", and I hope the other members of the respected Scientific Jury will support her.

09/04/2023

Stara Zagora

Prof. Yulian Rumenov Ananiev, MD,PhD