

РЕЦЕНЗИЯ

Институт по биология и
имунология на
размножаването - БАН
Вх. № 7940/30.01.24г

от проф. Радостина Ивайлова Александрова, доктор (секция „Патология”, Институт по експериментална морфология, патология и антропология с музей – БАН) - член на Научно жури съгласно заповед № 123/ 29.11.2023 г. на Директора на Института по биология и имунология на размножаването „Акад. Кирил Братанов“ – Българска академия на науките (ИБИР-БАН)

Относно дисертационен труд на тема: „Влияние на специфични микро РНК-и в туморната патогенеза, чрез промяна на процесите на автофагия и вродена имунна сигнализация”;

за присъждане на образователна и научна степен „ДОКТОР” по научна специалност „Имунология“, шифър 01.06.23, професионално направление „Биологически науки“ 4.3., област на висше образование 4. „Природни науки, математика и информатика“;

на докторанта Радостина Петкова Цветанкова, Лаборатория „Репродуктивни ОМИКС технологии“, ИБИР-БАН, София, България;

с научен ръководител: проф. дбн д-р Красимира Тодорова, Хайрабедян, Лаборатория „Репродуктивни ОМИКС технологии“, ИБИР-БАН.

1. Актуалност и значимост на дисертационния труд

Темата на представения дисертационен труд е изключително актуална, но и много смела. Достатъчно е да споменем трите ключови думи микро РНК, автофагия и вродена имунна сигнализация от една страна и рак на простатата от другата.

Раковите заболявания, и по-специално карциномът на простата, са сред водещите медицински и обществени предизвикателства на нашето време. И няма как да не е така при положение, че неоплазиите са на второ място като причина за настъпване на смърт

или трайна инвалидизация, нареждайки се в тази тъжна класация веднага след сърдечносъдовите заболявания. Що се отнася до рака на простатата, по данни на Global Cancer Observatory, към 2020 г. той е бил най-често диагностицираният злокачествен тумор при мъжете в 112 от 185 страни, а по броя на смъртните случаи заема петото място. Възрастта е сред основните рискови фактори за развитието на простатния карцином и с увеличаването на продължителността на живота се очаква значението му в здравен, социален и икономически аспект да нараства. Това още веднъж поставя ударение върху спешната необходимост от по-доброто му изучаване и най-вече от подобряване на възможностите за контрол върху него.

Безспорно това няма как да се случи без задълбоченото опознаване на участващите в патогенезата му молекулярногенетични, епигенетични и имунологични молекули и пътища, за да бъдат намерени нови възможности за усъвършенстване на диагностичните, прогностичните и терапевтичните подходи. Кои са основните фактори, замесени в канцерогенезата; при какви обстоятелства, как и защо клетката тръгва към гибелта си или пък оцелява; кога и къде се намесва автофагията и какво е значението на вродената имунна сигнализация. Изучаването поотделно на всеки един от тези „играчи“ е достатъчно сложно, а търсенето и очертаването на взаимоотношенията между тях, идентифицирането на молекулите и механизмите, които ги обуславят, обрисувването на цялостния пъзел, който в кратка сметка ще определи съдбата не само на клетката, а на човека, е изключително важна и привлекателна, но и безкрайно трудна задача. Затова решението на докторанта и научния ръководител да тръгнат в тази посока при подготовката на дисертационния труд буди уважение.

Темата на дисертационния труд е в съответствие с целите на Националната стратегията за развитие на научните изследвания в Република България 2017-2030 както и с приоритетите на програмата „Хоризонт Европа“ на ЕК, тъй като ще допринесе за подобряването на здравето и повишаването на качеството на живота, подпомагайки решаването на глобални предизвикателства, каквито са раковите заболявания, и създавайки предпоставка за постигане на върхови научни постижения.

2. Преглед на дисертационния труд

Дисертационният труд е написан на 160 страници и включва: Заглавна страница (1 стр.), Съдържание (3 стр.), Списък на използваните съкращения (1 стр.), Въведение (1 стр.),

Литературен обзор (38 стр.), Цели и задачи (2 стр.), Материали и методи (14 стр.), Резултати (47 стр.), Дискусия (20 стр.), Изводи (1 стр.), Приноси (1 стр.), Библиография (24 стр.), Приложения (2 стр.), Списък с публикации и участия (2 стр.), Допълнителни участия, публикации проекти по време на докторантурата (2 стр.), Благодарности (1 стр.). Илюстрирана е с 4 схеми (3 в „Литературния обзор“ и 1 към „Резултати“), 33 фигури (32 в раздел „Резултати“, 1 в) и 5 диаграми (1 в „Резултати“ и 4 в „Дискусия“ - цветни или черно-бели, но всички с високо качество.

Въведението разкрива мотивите, които са провокирали интереса към темата на дисертационния труд, нейната актуалност и значимост. Написано кратко, стегнато и обосновано, то веднага грабва вниманието на читателя. Звучи като трейлър на интересен филм, който си заслужава непременно да гледаме.

Литературният обзор е издържан в същия дух. В него среща си дават отличната осведоменост на авторката в областта на дисертацията (и не само!), способността ѝ да синтезира и обобщава, желанието ѝ да представи многоликия образ на разглежданите проблеми по достъпен и увлекателен начин. В Литературния обзор последователно са представени биологията и поведението на простатния карцином и въпросите и проблемите, които той поставя пред биомедицинската общност и цялото общество; състоянието и възможностите на диагностичните и прогностичните методи и наличните към момента биомаркери при това заболяване, с техните предимства и недостатъци; прицелната терапия, която набра скорост при други онкологични заболявания, като рак на гърдата и редица онкохематологични заболявания, и чрез която биомедицинската наука превръща „силните страни“ на злокачествените тумори, отговорни за повишената пролиферация, инвазивност и оцеляване на раковите клетки в тяхна „ахилесова пета“ и мишена за селективна атака с помощта на моноклонални антители и киназни инхибитори. За да може прицелната терапия да „превземе“ и простатния карцином обаче, е нужно задълбочено изучаване на молекулярногенетичните, епигенетичните и имунологичните механизми, които го обуславят. Именно на тях е посветена втората част на Литературния обзор. В нея докторантката се фокусира върху същността и ролята на микроРНКите в хода на канцерогенезата и потенциалното им приложение като надеждни диагностични и предиктивни биомаркери при простатния карцином. Още повече, че те може да бъдат изолирани не само чрез тъканна биопсия, но и по неинвазивни начини от достъпни телесни течности (кръв, серум, плазма, но и урина и еякулат). Последното ги прави особено атрактивни за клиничната практика, тъй като би позволило многократно

взимане на проби и осъществяване на ранна диагностика и/или проследяване на развитието на болестта и отговора на приложената терапия. Специално внимание е отделено на ролята на автофагията при простатния карцином, както и на вродената имунна сигнализация.

Прави впечатление критичният поглед на докторантката, която обективно интерпретира наличната в достъпната литература информация, засягайки „противоречивия“ характер на данните и предизвикателствата, пред които сме изправени. Литературният обзор завършва с кратко обобщение, което още веднъж насочва към необходимостта от проведеното проучване. Във фокуса му са поставени генът МАРК1 (митогенно активирана протеин киназа) и миЛНК-141 – ключови играчи в канцерогенезата и туморната прогресия, чиято роля обаче все още крие редица неизвестни. В зависимост от обхвата на гените, които повлиява и гените, които я повлияват, миРНК-141 може да изпълнява тумор супресорна, но и онкогенна функция и задава не един и два въпроса на специалистите. Отговорите трябва да се търсят, защото миРНК-141 може да служи като удобен биомаркер (открива се в лесно достъпни биологични течности, включително урина) и обещаваща терапевтична стратегия. За да се случи това обаче, са ни нужни още доста парченца от мозайката и идеята на докторанта и научния ръководител е да намерят някои от тях.

Литературният обзор е написан на висок научен стил, но в същото време се чете с лекота. Зад подготвянето му стоят много знания, мисъл, труд, професионален интерес и любопитство, любов към избраната специалност – всички те са го превърнали в ценен източник на съвременна информация за широк кръг специалисти. Заслужава да се помисли как по-успешно да бъде популяризиран.

Цели и задачи. Целта (1 брой) е ясно и точно формулирана. Задачите (9 на брой) са описани стъпка по стъпка и звучат като конкретен и добре обмислен план за действие. Докторантът и научният ръководител са пристъпили към проучването след сериозна предварителна работа по подготовката на изследователската стратегия.

Разделът „**Материали и методи**“ е подробно и добре описан. Като моделни системи са използвани две човешки клетъчни линии, получени от метастатичен карцином на простатата: от костни метастази (линия РС3) и метастази в левия субклавикularan лимфен възел (линия LNaCaP). Двете клетъчни линии се различават и по редица други показатели, включително наличие / отсъствие на хормонални рецептори, гена p53, Y хромозома, чувствителност към андрогенна терапия, нива на ДНК

метиране в промотора на мРНК-141. Използван е богат набор от съвременни молекулярнобиологични / молекулярногенетични, биохимични, биоинформатични и имунологични методи, работа с клетъчни култури.

Методите и техниките са представени подробно, посочена е информация за използваните реагенти и апаратура, което би било полезно за всички, извършващи сходни проучвания.

Резултатите следват хода на поставените цели и задачи. Те са подробно представени и отлично онагледени чрез 32 фигури и 1 диаграма с високо качество, които улесняват възприемането им.

При подготовката на дисертационния труд са получени оригинални данни за ролята на мРНК-141 при рака на простатата и по-конкретно в регулацията на митофагията и макрофагията на фона на сложни взаимоотношения с ключови участници в други сигнални пътища (TAK1-NF- κ B, TAK1-p38MAPK) както и за значението ѝ в метирането на ДНК. Разкрити са нови данни и за въздействието на MAPK1 върху автофагията при клетъчни моделни системи на различни метастатични форми на простатен карцином, миграционната активност на клетките и проинфламаторната сигнализация.

Получените оригинални резултати обогатяват познанията ни за биологията и поведението на метастатичния карцином на простатата и ролята на епигенетичната регулация и автофагията, разкривайки нови диагностични, прогностични и терапевтични възможности.

Разделът „Дискусия“ безспорно е най-предизвикателната част при написването на един дисертационен труд. Не просто изпит, а изпитание за теоретичната подготовка и критичното мислене на автора, способността му да съпоставя данни и факти, да съзре ред в хаоса, но и несъответствия в иначе подредени на пръв поглед неща, да очертае червената линия, свързваща направеното от избора на заглавие, през формулирането на целта и задачите, чак до последния извод и принос. В този случай докторантката се е справила повече от успешно с това предизвикателство, което е и своеобразен атестат за отлично свършена работа от научния ръководител в ролята му на ментор. Получените собствени резултати са детайлно анализирани на фона на достъпната информация в достъпната литература. Най-ценното в случай е, че ролята и съдбата на отделните участници в изследваните събития, не се разглеждат поотделно като индивидуални солисти, а е направен сполучлив опит да се чуе музиката на целия оркестър, да се видят

взаимовръзките между пътищата, в които те участват. А това никак не е лесно, като се има предвид колко многолики са изследваните гени/молекули и процеси и колко различни и дори противоположни свои страни може те да изявят в зависимост от обстоятелствата, при които се случват – в контекста на конкретната микросреда и ситуация, под влиянието на редица фактори, голяма част от които са все още неизвестни. И само благодарение на малките стъпки, направени от подобни амбициозни (и смели) проучвания ще помогнат да подредим целия пъзел и да предприемем истински голямата крачка напред, а именно – пробив в профилактиката, диагностиката и лечението на раковите заболявания въобще и простатния карцином конкретно.

Въз основа на получените резултати са систематизирани 9 извода, които напълно приемам.

Съгласна съм и с обособените 2 приноса с оригинален характер, посочващи новаторските елементи в дисертационния труд.

Цитираната литература обхваща общо 359 заглавия (2 са на кирилица, а останалите на латиница), като 165 от тях (~46%) са публикувани от 2013 година насам.

4. Публикации и участия в научни форуми на докторанта по темата на дисертационния труд

По темата на дисертационния труд са публикувани две статии в издания, които са реферирани и индексирани в световно известни бази данни за научна информация (Scopus, Web of Science): „Comptes rendus de l’Académie bulgare des Sciences“ (с импакт фактор 0.326; Q3) и „Biotechnology and Biotechnological Equipment“ (с импакт фактор 1.762; Q3). Радостина Цветанкова е първи автор и в двете публикации. Получените резултати са представени с 5 съобщения на 4 научни форуми, 3 от които международни.

5. Оценка на съответствието между Автореферата и дисертационния труд

Авторефератът е изработен в пълно съответствие с дисертационния труд и представя в съкратен вариант същността на проучването, последователността на експерименталната работа, получените резултати и направените на тяхната основа изводи и приноси.

6. Критични бележки и коментари, препоръки, въпроси към докторанта

Дисертационният труд само би спечелил ако в Литературния обзор се включат още няколко фигури, които да онагледят представената информация.

Двете използвани като моделни системи клетъчни линии се различават и по нивото на метилиране на промотора на миРНК-141 – добре е тази разлика да бъде спомената още при представянето им в раздел „Материали и методи“.

В текста забелязах някои технически и граматически грешки: неправилно употребен пълен или кратък член; словоредът на някои изрази / изречения на български език буквално следва английския словоред; чуждици (от руски и английски); включване на авторите на кирилица сред тези на латиница, а не отделно и др.

Изброените пропуски по никакъв начин не намаляват качествата на дисертационния труд.

Към докторантката имам следните въпроси:

- Би било интересно да се съпостави поведението на основните „играчи“, изследвани в дисертационния труд и техните взаимоотношения в клетки от карцином на простатата, доброкачествени новообразувания и нормални тъкани. Науката и човешката любознателност са безкрайни, но времето за подготовка на дисертационен труд и бюджетът за осъществяването му са крайно ограничени. Затова въпросът ми е може ли да се направи такава съпоставка въз основа на наличните литературни / експериментални данни и дали са планирани подобни проучвания в бъдеще.
- В каква посока според нея трябва да продължат проучванията в тази област, кои са следващите парченца от пъзела, които трябва да бъдат намерени?
- Кои са основните предизвикателства, с които ще се срещнат изследователите при намирането им?

7. Автобиографични данни и лични впечатления от докторанта

Радостина Цветанкова е завършила паралелка с профил природни науки в СОУ „Нешо Бончев“ в гр. Панагюрище през 2011 г. През 2015 г. придобива ОКС „Багалавър“

по „Биоинформатика“ в ПУ „Паисий Хилендарски“, през 2014-2015 г. получава следдипломно образование като „Учител по биология“, а през 2017 г. става „Магистър“ по „Медицинска биология“ в същото висше учебно заведение. Работила е като регистратор и технически сътрудник в МБАЛ Уни Хоспитал ООД в гр. „Панагюрище“, като учител и медицински биолог в клинични лаборатории. През 2018 г., след успешно издържан конкурсен изпит, е зачислена като докторант в редовна форма на обучение в лаборатория по „Репродуктивни ОМИКС технологии“ в ИБИР-БАН, където е назначена като асистент през юни 2022 г. Преминала е през обучителни семинари и курсове, проведени в София (ИБИР, ВМА), Пловдив и Варна. Автор е на 3 публикации и участва в колектива на 4 научноизследователски проекти.

8. Заключение

Представеният дисертационен труд е посветен на актуална и значима тема, заложените в него цели и задачи са изцяло постигнати, при това на високо професионално ниво, а получените оригинални резултати са безспорен принос в областта на туморната имунология, молекулярната генетика, епигенетиката, биохимията и биоинформатиката.

В хода на подготовката, докторантът Радостина Цветанкова е усъвършенствала своите биомедицински познания, усвоила е богат набор от съвременни методи и техники, израснала е като способен и перспективен учен. Активно се е включила в подготовката и успешното изпълнение на амбициозен научноизследователски проект, който със своите замисъл и размах допринася за повишаването на авторитета на българската наука в европейското и световно научно пространство. И най-важното: получените при изпълнението на дисертационния труд нови резултати допринасят в борбата с едно от водещите медицински и обществени предизвикателства на 21ия век – раковите заболявания и по-конкретно карциномът на простата. Положенията от докторанта и научния ръководител усилия при подготовката на дисертационния труд и полученият краен продукт заслужават висока оценка.

Всичко това ми дава основание да смятам, че представеният дисертационен труд отговаря напълно на Закона за развитие на академичния състав в Република България, както и на правилника за неговото приложение в ИБИР - БАН, за присъждане на образователната и научна степен „Доктор“. Убедено давам своята положителна оценка и препоръчвам на членовете на Уважаемото Научно жури да присъдят на Радостина

Петкова Цветанкова образователната и научна степен „Доктор” по научна специалност „Имунология“, шифър 01.06.23, професионално направление „Биологически науки“ 4.3., област на висше образование 4. „Природни науки, математика и информатика“.

30.01. 2024 г.

.....

/Проф. Р. Александрова/