

Институт по биология и  
имунология на  
размножаването - БАН

Вх. №. 360-110/04.09.23

## РЕЦЕНЗИЯ

от доц. Десислава Василева Абаджиева (ИБИР-БАН),

член на Научно жури съгласно заповед № 82/13.07.2023 г.

на Директора на Институт по биология и имунология на размножаването  
„Акад. Кирил Братанов“ - Българска академия на науките (ИБИР-БАН)

Относно: дисертационен труд на тема *„Клетъчно специфична локализация и генна експресия на MAS1R, CD10, ACE, ACE2, KISS1 и KISS1R при жени с тумор на млечната жлеза“*, представен от **Десислава Петрова Анкова**, свободен докторант към сек. „Имунобиология на размножаването“ при ИБИР-БАН, с научен ръководител доц. Павел Рашев от ИБИР-БАН;

за присъждане на образователна и научна степен „ДОКТОР“,

по специалност: *„Физиология на животните и човека“*, шифър 01.06.17,

област на висше образование: 4. Природни науки, математика и информатика,  
професионално направление 4.3. Биологически науки

### **I. Професионална и творческа биография на кандидата.**

Десислава Петрова Анкова завършва магистърската си степен в спец. *“Биотехнологии”* при Химикотехнологичен и металургичен университет – гр. София през 2010 г., където придобива умения по молекулярна биология и генетика, фармацевтични биотехнологии, имунология, микробиология, биохимия.

През декември, 2012 г. постъпва като асистент в секция „Имунобиология на размножаването“ при ИБИР-БАН, но през 2019 г. във връзка с изменение в Закона за развитието на академичния състав в РБългария е преназначена в длъжността специалист-биолог. Паралелно, Десислава Анкова е зачислена в свободна форма на докторантура към

същата секция с научен ръководител доц. Павел Рапшев, съгласно Заповед № 373/01.10.2015г.

Отчислена е с право на защита считано от 01.10.2018 г., съгласно решение на НС № 73/23.10.2018 г. и Заповед № 423/02.11.2018 г. на Директора на ИБИР-БАН.

През периода на докторантурата кандидата посещава образователни курсове, взима участие в международни и национални научни конференции, с цел да повиши квалификацията си и да изпълни кредитните изисквания на ЦО - БАН за докторанти, като придобива 422 т., при изискуем минимум от 250 т., съгласно Приложение 2.

## **II. Нормативна документация за участие в конкурса.**

Кандидатът предостави всички документи, нормативно изисквани по процедурата. След прегледа им е установено, че е в съответствие с Правилника за развитие на академичния състав на ИБИР-БАН, съответно и Правилника към Закона за развитие на академичния състав в РБългария. Докторант Десислава Анкова покрива минималните изисквания за придобиване на ОНС „доктор“ в професионално направление 4.3. Биологически науки.

## **III. Преглед на дисертационния труд.**

Дисертационният труд е написан на 106 страници и включва: Заглавна страница (1 стр.), Съдържание (2 стр.), Списък на използвани съкращения (3 стр.), Въведение (2 стр.), Литературен обзор (33 стр.), Цел и задачи (1 стр.), Материали и методи (10 стр.), Резултати и дискусия (15 стр.), Изводи (9 стр.), Заключение (2 стр.), Списък с използваната литература (27 стр.), Приложения (2 стр.), в това число списък на публикации, свързани с темата на дисертацията и участия за представяне на резултатите на научни форуми. Дисертационният труд е онагледен с 3 таблици и 18 цветни фигури.

*Актуалността на темата* се изразява през обекта на изследването – тумори на млечната жлеза при жени, едно заболяване, засягащо повече от 2 милиона пациента/годишно в световен мащаб по данни на СЗО, което го прави най-разпространения рак сред възрастните в развитите страни. 95% от смъртните случаи на пациенти с онкологични заболявания, са в следствие на рак на гърдата.

Въпреки наличието на различни кампании към ранен скрининг и проучвания, редица фактори, влияещи на туморния растеж, остават неизяснени. Всяко изследване в областта, в

това число и настоящото, може да се счита за навременно, с цел подпомагане разбирането и цялостното управление на рака на гърдата.

*Уводът* представя в стегната форма значението на проблема, мотивите на докторантката да се насочи към темата на дисертационния труд. Подчертава се важната роля на ренин-ангиотензиновата система за определянето на метастатичния потенциал на туморите.

*Литературният обзор* включва описание на заболяването карцином на млечната жлеза при жената. Подробно са описани компонентите на ренин-ангиотензиновата система в туморната формация, тяхната диагностична стойност, като плавно се обвързват с физиологични фактори и здравни състояния на човека. Не са изключени и литературни препратки към изследвания с лабораторни животни, което дава по-пълна картина по темата. Сложната мрежа на сигнализация в туморогенезата е свързана с различни физиологични отговори, като докторантката не е пропуснала да насочи вниманието и към киспептините и рецептора KISS1R, представяйки биологичната им функция и проявлението им при различни тъканни находки.

*Целта* на дисертационния труд и произтичащите от нея задачи (6 на брой) са ясно и точно формулирани.

*Приложените материали и методи* са съвременни и напълно отговарят на поставените цели и задачи. Става ясно, че изследванията са проведени върху туморен материал на млечна жлеза, получени от пациентки на Център за рак на гърдата – МБАЛ „Токуда Болница София“ (n=29) и от отделението „Патоморфология на туморите“ към СБАЛО, гр. София (n=54), които са съпоставени в хода на изследването с находки от здрава околна тъкан (n= 71). Методите хистологично оцветяване, имунохистохимия, RT-PCR (Real Time Polymerase Chain Reaction) са описани подробно, което прави възможно тяхното възпроизвеждане. Посочени са адекватно използваните апаратури и консумативи.

*Резултатите* следват хода на поставените цели и задачи. Те са представени в 1 таблица, описваща основните характеристики на изследваните карциноми на гърдата и 12 фигури, репрезентативни за имунохистохимична експресия и такива, отразяващи промяна на генната експресия, в туморна тъкан спрямо околната не туморна тъкан.

Проучването е проведено в два последователни етапа за проследяване локализацията и експресията на MAS1, CD10, ACE и ACE2, и втората за проследяване на KISS1 и KISS1R в

инвазивен дуктален карцином - тумори от млечна жлеза и контрола от околна не туморна тъкан, обосновано от групирането на туморните проби (2009-2015 г. и 2019-2020 г.).

Резултатите са аналитично обсъдени, до колкото позволяват наличните литературни данни, които се оказват доста противоречиви, въпреки това подкрепят хипотезата, че компонентите на ренин-ангитензиновата система и KISS1/KISS1R сигналната система участват в патофизиологията на рака на гърдата на жената. Докторантката установява най-висока протеинова и mRNA експресия на ACE при нискодиференцирани високостепенни карциноми. Резултатите ѝ сочат още, ниска имунореактивност и потисната генната експресия в туморите относно CD 10 и Mas1R в карциноми на млечната жлеза в сравнение с околната нетуморна тъкан. По отношение на KISS1 и KISS1R, е приложен корелационен анализ, който показва положителна връзка в протеиновата експресия между тях, с което се потвърждава, че взаимовръзката KISS1/ KISS1R не действа като метастазен супресор при рака на гърдата.

*Дискусията* на получените резултати затвърждават уменията на докторантката да анализира информация и да прилага нови познания.

*Изводите* са 6 на брой, те са в съответствие с поставените цели и задачи, и напълно отговарят на получените резултати.

Списъкът на цитираната *литература* включва 255 източника, един от които е на кирилица, а останалите са на латиница. Големият брой цитати, остава впечатление за максимализъм на позованите литературни справки, по които се съпоставят данните.

*Заключението* обобщава постигнатите резултати, без да ги преповтаря. При проучванията извършени в настоящия дисертационен труд, без съмнение се установява участието на MAS1R, CD10, ACE, ACE2, KISS1 и KISS1R в туморната прогресия на рака на гърдата при жени и се препоръчват от докторантката и нейния ръководител, като прогностични маркери в онкологията. Проследяването на тези компоненти, все още представлява голям интерес пред научните среди, което загатва възможности за допълнителни изследвания по темата.

#### **IV. Оценка на съответствието между Автореферат и дисертационния труд.**

Предоставеният автореферат е в съответствие с дисертационния труд, съдържа проучването, в съкратен вариант, с всичките му резултати, изводи и заключение ( 35 стр.).

#### **V. Критични бележки, препоръки и въпроси към докторанта.**

Нямам съществени забележки към докторантката, забелязват се някои дребни технически грешки, например на стр. 20, стр. 29;

- в обзорния раздел, част 3.5. липсват литературни препратки;
- в раздел Материали и методи, част 2.9. Обработка на данните от RT-PCR, откривам техническо несъответствие между две последователни изречения - експресия на изследваните гени, в първото или експресия на таргетния белтък във второто, което приемам за технически пропуск по отношение на терминологията;

- част от обсъждането и информативните препратки, посочени в глава Литературен обзор, по конкретно част 6.7., според мен може да премине към дискуссионния раздел, където има нужда от повече съпоставка на получените резултати. В голям процент те са разнопосочни по отношение на отделните изследвани компоненти, което е естествен изход, говорейки за набор от биологични данни; още повече изхождайки от факта, че ренин-ангиотензиновата система не е лека за разгадаване;

- литературните източници не са представени по единен стандарт, а при 2-3 от тях липсва отчетливо изведена година, това затрудни преценяване на % актуална литература от последните години. Препоръчвам на докторантката повече прецизност в това отношение в бъдеще. Въпреки това, броят им е красноречив за една мащабна извадка, което оправдава предходната бележка.

Посочените пропуски по никакъв начин не намаляват научната стойност на разглеждания дисертационен труд.

#### **Към докторантката имам следните въпроси:**

1/. При изпълнение на полимеразната верижна реакция посочвате, че ползвате генът *gapdh* при нормализиране експресията на гени *mas1*, *nep*, *ace*, *ace2*; докато за нормализиране

експресията на *kiss1* и *kiss1r* сте използвали друг референтен ген - *pcbp1*. Може ли да обясните причината за този избор?

Също не открих да е отбелязано в методологията ви, в каква повтораемост са изработени пробите по тази методология?

2/. втората ви задача към дисертацията е, цитирам: " Хистопатологично типизиране на туморите и оценка на тяхната степен на диференциация (грейд)." След наблюденията под микроскоп на тъканни проби от млечна жлеза, може ли да назовете какъв тип тъкан преобладава в изграждането на туморите? защото е известно за някои тъкани, че може да търпят метаплазия, дали при съпоставка на туморна и околна нетуморна тъкан сте забелязали подобни разлики още на тъканно ниво?

3/. В литературният обзор сте посочили различни квалификации за грейд на туморите, но конкретно във вашите резултати, не става ясно коя квалификация ползвахте, за да направите посочените във фигурите разграничения като умерено -, ниско - или силно - диференциран дуктален карцином.

## **VI. Заключение.**

Главен аспект в представения ми дисертационен труд е туморното имунонаблюдение специално при карцином на женска гърда, една значима тема в светлината на съвременната онкология.

Заложените в дисертационния труд цели и задачи са изцяло постигнати на добро научно ниво, благодарение на което се предоказва, че компонентите на ренин-ангиотензиновата система, както и *KISS1/KISS1R* са локално експресирани в млечната жлеза и имат отношение към патологията на рака на гърдата при жената. Авторският принос се изразява в потвърждение, че системата *KISS1/KISS1R* не действа като метастазен супресор при рака на гърдата при инвазивните нискодиференцирани карциноми. Потвърдителният характер на останалите резултати, ги превръща в заявка за прогностични и предикативни параметри в областта на физиологията на животните и човека, и в областта на медицинската онкология.

Научното детайлизиране на резултатите се изразява в представените от кандидата публикации (две в реферирани списания и една в списание с импакт фактор), притежаващи акценти на актуална тематичност, методологична компетентност, аналитична интерпретация, с което докторантката показва, че е усъвършенствала не само образователната си, но и научна подготовка.

Всичко гореизложено 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 и на останалите членове на уважаемото Научно жури да гласуват положително и присъдят на докторант Десислава Петрова Анкова, образователната и научна степен „Доктор“ по научна специалност „Физиология на животните и човека“, шифър 01.06.17.

01 септември, 2023 г.

Изготвил: ..



/доц. Десислава Абаджиева/