



До Директора  
на Института по Биология и  
Имунология на Размножаването  
„Акад. Кирил Братанов“  
БАН - София

*695-40/31.07.15*

## РЕЦЕНЗИЯ

от проф. д-р Виктория Сарафян – Озанян, дм, дмн

Специалист по медицинска биология и по клинична имунология

Научна специалност „Имунология“

Ръководител на катедра „Медицинска биология“ при

Медицински университет – Пловдив

*Относно дисертационен труд на тема „Генно-регулаторна мрежа  
между микроРНК-204, онкофузионния протеин TMPRSS2-ERG и  
транскрипционни фактори със значение за метастазирането“*

*на доц. Красимира Тодорова – Хайрабемян, дб*

*за присъждане на научна степен „Доктор на науките“ по научна  
специалност „Имунология“*

### ***Представяне и професионално развитие на кандидата:***

Красимира Тодорова завършва през 2001 г. Софийски Университет ”Св. Климент Охридски” в Магистърска програма по Клетъчна биология и Биология на развитието. Започва трудовия си стаж същата година като биолог-специалист в ИБИР и последователно заема длъжностите, асистент, гл. асистент и доцент. В момента е ръководител на Лаборатория по репродуктивни ОМИКС технологии в същия институт. Защищава дисертация

за ОНС „доктор“ през 2006 г. и се хабилитира като доцент през 2013 г. Първата ѝ дисертация, както и повечето от научните ѝ трудове, са посветени на различни аспекти от простатната патология. Специализациите в Harvard Cutaneous Biology Research Center, Boston, MA, USA; Essex University, School of Biological Sciences, Colchester, UK и Basel University, Switzerland допринасят за добрата ѝ методична подготовка.

### **1. Общо описание**

Рецензията е изготвена в изпълнение на заповед № 163/13.05.2015 на директора на ИБИР „Акад. К. Братанов“.

Кандидатката доц. Красимира Тодорова-Хайрабедян е представила пълен комплект документи и материали, съобразени с изискванията по процедурата в ИБИР.

Рецензията е написана е въз основа на представен на електронен носител дисертационен труд, който представлява завършено и мащабно фундаментално проучване. Структуриран е по правилата за изготвяне на дисертационен труд и е умерено балансиран като съотношение между отделните раздели : въведение – 2 стр.; литературен обзор – 47 стр.; цел и задачи – 3 стр.; материал и методи – 18 стр.; резултати – 167 стр.; дискусия – 38 стр.; изводи и приноси – 2 стр. и книгопис от 499 литературни източника. Съдържа 153 фигури. Би било удачно номерацията започва от въведението, а не още от заглавната страница.

Прочитът на труда оставя цялостното впечатление на компетентно и аналитично написана дисертация с критична интерпретацията на собствените резултати. Предварителна езикова редакция би подобрила значително граматическия и пунктуационен профил на работата.

## 2. Актуалност на тематиката

Тематиката е свързана с основни молекулни и клетъчни механизми на патологичните промени в простатната жлеза с акцент върху онкогенетичните изменения. Фактът, че простатният карцином е втората по честота причина за смъртност от туморни заболявания в световен мащаб, обуславя актуалността на дисертационния труд. От клинична гледна точка това е сериозно състояние, което освен като личен здравен и психологически проблем, има и сериозни социални и демографски последствия. Етиологичните и патогенетични механизми на процеса са комплексни и все още неизяснени напълно.

С пълното геномно и транскрипционно секвениране на пациенти с простатен карцином се налага коренно различен подход при диагностиката и терапията. Съвременните тенденции в лечението на тези тумори изискват отлично познаване и модулиране на молекулно ниво на основни „играчи“ в патогенезата на заболяването. Главният регулаторен остеобластен транскрипционен фактор RUNX2 се оказва пряко свързан с прогресирането на простатния карцином, защото активира промотора на PSA гена. Семейството на ETS транскрипционните фактори има отношение към новообразуваните онкопротеини в следствие на драматично препреждане на генома. Уникалният за простатния аденокарцином фузионен протеин TMPRSS2-ERG, съчетан с амплификация на новия ген, води до лоша прогноза. МикроРНК експресионните профили и епигенетичните модификации правят картината още по-сложна и разнородна.

От една страна – се разработва съществен клиничен проблем, а от друга се обогатява и фундаменталната база от знания, свързани с ролята на генно-

регулаторни мрежи между миРНК-и, онкофузионни гени и протеини и транскрипционни фактори.

### **3. Познаване на проблема**

Поздравявам доц. Тодорова за избора ѝ да се изправи пред сериозно научно предизвикателство за изследване участието на специфични миРНКи, основни транскрипционни фактори и патологични генно-регулаторни мрежи при простатен карцином. Поставената цел изисква задълбочени теоретични познания и отлична методична подготовка, както и прецизно изпълнение и анализ – всички тези качества са видни в представения труд.

В литературния обзор личи отлично познаване на проблема и творчески анализ на цитираната литература. Очевидно в хода на разработване на дисертационния труд Кр. Тодорова е навлязла дълбоко в проучваната проблематика и е обогатила и надградила биологичното си образование в сферата на туморогенезата и простатната патология.

Целта е логично изведена от завършващия раздел на обзора, в който са обобщени дискуссионните и нерешени въпроси. Тя е преформулирана и съобразена с препоръките от предварителното становище. Същото важи и за задачите, които са редуцирани от първоначалния вариант от 11 на 5, като са представени най-съществените в обобщен вид. На тази база считам, че допълнителните още 9 подзадачи утежняват работата. По-удачно би било, ако те се включат в хода на изложението на резултатите.

### **4. Методика на изследването**

В раздела “Материал и методи” са представени използваните материали (лабораторни и клинични) и методи достатъчно добре и без излишно детайлизиране.

В проучването са използвани 5 клетъчни линии от простатен карцином с различна степен на малигненост, 106 тъканни срези от простатна инфламаторна атрофия (PIA), простатна интраепителна неоплазия (PIN), простатен карцином (PCa) и простатен аденом и 35 серума от пациенти с карцином. Материалът е достатъчен и правилно подбран за изпълнение на поставените задачи.

Впечатляващ е наборът от високо информативни съвременни методи на молекулната и клетъчната биология, и имунологията. Започвайки с вече рутинните в лабораторната практика имунофлуоресценция, имунна хистохимия и RT-PCR, авторката прилага и геномно деметилиране и количествена нанопротеомика. Внедрени са нови техники като работа с микроРНК – трансфекция с микроРНК мимик и knockdown, ендорибонуклеазно получаване на миРНК, репортерни системи, стабилни клетъчни линии, луциферазни реакции, RT-qPCR, FACS и др.

Високото методично ниво на дисертацията се дължи на уелото съчетаване на утвърдени методи с авангардни и адекватни на поставената цел молекулно-биологични тестове. Силата на работата е в комплексния и аналитичен подход.

## **5. Характеристика и оценка на дисертационния труд и приносите**

Резултатите са впечатляващи не само по обем - 167 страници и 153 фигури, но и като смисъл и логика на представянето. Те следват задачите на проучването. Представени и онагледени са прецизно и дават основание за извеждане на сериозни изводи. Като резултат и принос със съществено значение приемам предложениия модел на генно-регулаторни взаимоотношения с участието на микроРНК-204 в простатен карцином. Полезна както за фундаменталната наука, така и за практиката, е

предложената схема на генно-регулаторните взаимодействия между микроРНК-204, главните транскрипционни фактори (RUNX2, c-MYB, ETS1), онкофузионните протеини TMPRSS2-ERG, андрогенния рецептор и молекули, участващи в епитело-мезенхимната трансформация при простатен карцином. В нея е представена взаимовръзка между микроРНК-204 и молекули, включени в инфламаторните (NFkB, NOD1), автофагоцитозните (ATG16L, LC3) и междуклетъчните (Occludin) взаимодействия.

Високо оценявам и сравнителния анализ на експресионните профили в рамките на отделните секреторни колони в PIA лезии, както и такива в PIN, възникнали в рамките на PIA огнища.

Считам, че могат да се намерят по-удачни български думи от сигналинг (сигнализиране), характеристичен (характерен), онкомирна и др., както и да се редуцират повторенията, да се скъсят изреченията, и така да се подобри възприемането и осмислянето на труда.

Дискусията е впечатляващо аналитична, разнопосочна, но в същото време добре фокусирана към основния проблем. Показва отлично познаване на патологията на простатната жлеза, на съвременното състояние на научните изследания и тенденциите в тази насока. Красимира Тодорова, още като част от колектива на проф. Кехайов и проф. Кюркчиев, има интерес към простатния карцином, за което красноречиво говорят двете публикации в *Cancer Immunology* и *Anticancer Research* от 2005 г.

Разглеждат се основните феномени, установени в хода на проучването. Доказва се сложно дисрегулиране на гените, участващи в позитивната обратна връзка между c-MYB-RUNX2-ETS1 и рестрикционния контрол, съществуващ от микроРНК-204. В резултат на това се потенцира силно метастатичен фенотип в TMPRSS2-ERG фузионно позитивните клетки.

МикроРНК-204 постепенно загубва тумор-супресорната си активност и започва да дисрегулира напредналите фузионно позитивни клетъчни линии и предава на епитело-мезенхимната трансформация AR зависим и онкофузионно зависим характер. От съществена роля за клиничната практика е фактът, че простатният карцином, метастазиращ в лимфните възли и в костите, експресира различни епитело-мезенхимни маркери и транскрипционни фактори. Така се разкриват възможности за персонализиране на терапевтичните подходи на молекулно ниво.

Съществено достойнство на дисертацията е и предложената хипотеза, че базалните стволови клетки тип I са вероятно първите клетки, които претърпяват изменения, водещи до последващи туморогенни промени. Така се стига до загуба на експресия на GSTP1 и p63, намалена защита на ДНК срещу увреда и повишена вероятност от малигна трансформация.

В дисертацията на доц. Кр. Годорова се изяснява участието на некодиращите микроРНК-и в епигенетичната регулация в хода на простатната канцерогенеза. Обсъжда се връзката им с транскрипционните фактори, автофагоцитозата и инфламаторния проце. Осветлява се ролята на андрогенния рецептор и онкофузионните генни преподреждания в прогресията на простатния карцином. Очертават се възможности за индивидуализиране на диагностичния и терапевтичен подход.

Приемам напълно изводите от проучването, които уместно са редуцирани и обобщени до 7. Считаю, че приносите с оригинален характер са реални и отговарят на резултатите.

Авторефератът е подготвен по установения модел и отразява основните резултати от дисертационния труд. Нямаю препоръки към него.

## **6. Преценка на публикациите и личния принос на докторанта**

Доц. Красимира Тодорова-Хайрабедян е представила 14 пълнотекстови научни публикации в реферирани списания с общ импакт фактор 11.476. В 8 от тях (57%) тя е първи автор. Публикационната ѝ активност по темата отговаря на специфичните препоръчителни изисквания на ИБИР. Високо оценявам публикациите в *Mol Carcinogenesis*, 2015; *J Cancer Research*, 2014 и *Am J Reprod Immunol*, 2013. Трудовете ѝ са цитирани 65 пъти от чуждестранни автори.

Съществено професионално постижение на екипа Кр. Тодорова – С. Хайрабедян е и главата „The Stem Cell Paradigm and Its Application to prostate Cancer – An Old and Young Idea” в *Handbook of Prostate Cancer Cell Research – Growth, Signaling and Survival* – издание на Nova Science Publishers, Inc. New York от 2009 г.

Надявам се заявката за патент за метод и кит за откриване на онкофузионен протеин да бъде оценена и така да се даде възможност за прилагането на откритието за диагностика на простатните аденокарциноми.

Като млад учен, но и вече като ръководител на екип, Кр. Тодорова участва активно в различни проектни линии, като последователно разработва тематика, свързана с простатната патология. Дългогодишната ѝ колаборация с утвърден простатен патолог като д-р М. Караиванов е също гаранция за качествени и задълбочени резултати.

Личните ми впечатления от работата на доц. Тодорова по проекти и статии, които съм рецензирала на други етапи, ми дават основания да преценя позитивното ѝ професионално и кариерно развитие. Тя израствала от докторант



до задълбочен изследовател, способен да генерира идеи и да ръководи колектив, което е сериозно постижение.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Дисертационният труд на тема „Генно-регулаторна мрежа между микроРНК-204, онкофузионния протеин TMPRSS2-ERG и транскрипционни фактори със значение за метастазирането“ включва собствени разработки и теоретични обобщения с оригинален научен принос – изясняват се фундаментални механизми, предлагат се хипотези и се трасират нови терапевтични възможности. Той отговаря на изискванията на Закона за развитие на академичния състав в Република България и специфичните изисквания на ИБИР.

Въз основа на гореизложеното, убедено *давам своята положителна оценка* за проведеното изследване, представено от рецензирания по-горе дисертационен труд. Препоръчвам на уважаваното Научно жури да присъди научната степен “Доктор на науките” по научна специалност “Имунология”, професионално направление „Биологически науки“, на доц. Красимира Тодорова-Хайрабемян, дб.

30.07.2015 г.  
Гр. Пловдив

проф. д-р Виктория Сарафян, дм, дмн

