



РЕЦЕНЗИЯ

от проф. д-р Мария Иванова, дн
Институт по биология и имунология на размножаването „Акад. К. Братанов”,
Българска Академия на Науките

Относно: Дисертационен труд по процедура за присъждане на научно-образователна степен „Доктор”, заповед № 341 от 04.11.2016 г., представен от асистент Деспина Ваици Пупаки, за нуждите на „Имунобиология на размножаването” - ИБИР, БАН.

Тема на проекта за дисертация е: “ РОЛЯ НА ЕНДОПЕПТИДАЗИТЕ В ПАТОГЕНЕЗАТА НА ТУМОРИТЕ НА МЛЕЧНАТА ЖЛЕЗА ПРИ КУЧЕТО”

Научен ръководител: доцент Павел Рашев

Областта на висше образование: 4. Природни науки, математика и информатика; Професионално направление 4.3. Биологически науки; научна специалност: " Физиология на животните и човека ", шифър 01.06.17.

1. ОПИСАНИЕ НА ПРЕДСТАВЕНИТЕ МАТЕРИАЛИ

За участие в настоящия конкурс асистент Деспина Ваици Пупаки е представила комплект от документи, съгласно изискванията на ЗРАСРБ и правилника на „Института по биология и имунология на размножаването „Акад. К. Братанов” при БАН.

Асистент Деспина Ваици Пупаки участва в конкурса с общо с 2 научни публикации и 4 участия с постери и доклади на конференции и 8 цитирания. Цялостната публикационна дейност обхваща 21 публикации и 12 участия с абстракти от научни форуми. Някои от абстрактите са отпечатане в списания с ИФ, като общия ИФ от тях е 9.906. Представените научни материали са публикувани в предимно в български списания, с международно участие, както и в чуждестранни издания.

От представените научни публикации няма самостоятелни, но в двете публикации по конкурса ас. Деспина Пупаки е първи автор. Прави впечатление активността на асистент Деспина Пупаки относно личното представяне на доклади, постери на конгреси и симпозиуми, които са 7 на брой. На един от представените доклади е получила грамота за 1во място в секция „Морфология, екология и животновъдство“ от Международна научна конференция – 20 г. ветеринарен факултет при ЛТУ.

За конкурса е представено едно участие в проект за млади учени и докторанти BG051P0001 – 3.3.06 – 0059. От участието в проекта „Фундаментално и приложно обучение на докторанти, постдокторанти, специализанти и млади учени в интердисциплинарни биологични направления и иновационни

биотехнологии“ ас. Деспина Пупаки получава 40 точки по кредитната система за включване в два специализирани курса.

В списъка на научните трудове по конкурса не са включени такива, които не съответстват на темата на конкурса.

2. ДАННИ ЗА КАРИЕРНОТО И ТЕМАТИЧНОТО РАЗВИТИЕ НА КАНДИДАТА

Асистент Деспина Ваици Пупаки по специалност е ветеринарен лекар, с магистърска степен по „ Ветеринарна медицина“ към ЛТУ, София, от 2004 г. Работила е като офис – асистент и ветеринарен лекар през 2004 г. От 2005 -2008 г. е асистент към ЛТУ, Ветеринарен факултет. През 2008 става старши асистент, а от 2011 до 2015 е главен асистент и преподавател по „Хистология и ембриология“, участва при изготвянето хистологични препарати и в изследователска дейност.

През 2016 работи на половин щат към ИБИР – БАН, секция „Имунобиология на размножаването“.

От 01.01.2012 г. Деспина Пупаки е зачислена като задочен докторант за период от 4 години към Института по биология и имунология на размножаването „Акад. К. Братанов“, Българска Академия на Науките, секция „Имунобиология на размножаването“.

3. УЧЕБНО-ОБРАЗОВАТЕЛНА ДЕЙНОСТ

Асистент Деспина Ваици Пупаки притежава отлични умения да презентира свои научни постижения. Тя е водила упражнения на студенти по специалност Ветеринарна медицина към ЛТУ по „Хистология и ембриология“. Също така, притежава сертификат Относно изпълнението на изискванията по кредитната система, свързани с обучение и участие в специализирани курсове, както и полагане на задължителните изпити по докторантската програма, асистент Деспина Пупаки е събрала 338 кредита, което отговаря на изискванията от минимум 250 кредита.

4. ТЕХНИЧЕСКИ УМЕНИЯ И КОМПЕТЕНЦИИ

По време на обучението, в изпълнение на докторантската програма асистент Деспина Пупаки е усвоила редица нови и съвременни методи за работа. Проведените изследвания върху тъканен материал от спонтанни тумори на млечната жлеза чрез рутинна хистология, имунохистохимия, субстратна зимография и денситометричен анализ за оценка ензимната активност на желатинази, генно-експресионен анализ на базата на RT-PCR, различни статистически методи и други, покриват изискванията на образователната програма по подготовка и написване на дисертационен труд.

5. ОСНОВНИ НАПРАВЛЕНИЯ В ИЗСЛЕДОВАТЕЛСКАТА РАБОТА НА КАНДИДАТА И НАЙ-ВАЖНИ НАУЧНИ ПРИНОСИ

Дисертационният труд, представен от асистент Деспина Пупаки разглежда важна тема касаеща едно от най-честите неопластични заболявания при

женските индивиди, а именно спонтанните тумори на млечната жлеза. Опитите са проведени с кучета поради интересът към подобни проучвания и сходството на хистологичните типове с тези при рака на гърдата при хора.

Актуалността на темата е обоснована от уникална характеристика на туморите при кучето, обаче, където има по-честа пролиферация на МЕК, за които е известно, че притежават тумор-супресорни свойства. В този смисъл, проучванията върху туморите на млечната жлеза при кучето дават една алтернативна моделна система за проучванията свързани с прогресирането на туморите.

В настоящият момент, в България има оскъдни проучвания по темата и в този смисъл, изследванията върху туморите на млечната жлеза при кучето дават една алтернативна моделна система за изучаване на механизмите свързани с прогресирането на туморите.

Проектът за дисертация е написан на 139 страници. Онагледен е с 43 фигури и 8 таблици. Библиографията включва 274 литературни източника, всички на латиница.

Съдържа **въведение** (1 страница), в което са изложени важни факти относно социалните аспекти на заболяването. Показва се липсата на достатъчни данни за ролята физиологичните процеси и механизмите за възникване и развитие на туморите.

Литературният обзор е направен пригледно и обхваща 33 стр. Разделен е на 6 основни глави, в съответствие с темата и задачите. Разглеждат се проведени до сега изследвания в световен мащаб, които касаят развитието на млечната жлеза, хистологиче строеж и физиологични особености, възникване на спонтанни тумори, както и ролята на ендопептидазите и матриксните протеази в туморогенезата. Обосновава се използването на кучето като моделна система за изследванията на рака на гърдата. Представени са обобщени схеми касаещи класификация на тумори на млечната жлеза при кучета.

Добро впечатление прави, че на базата на направения литературен анализ се диференцират ясно неизяснените и спорни въпроси. Също така, като плюс на направената литературна справка е факта, че използваните литературните източници са от последните години, с което още по ясно се подчертава актуалността на проблема и необходимостта от проведените изследвания.

Поставената цел е свързана с проучвания върху ролята на ендопептидазите в патогенезата на туморите на млечната жлеза при кучето, като се проследява генната експресия, локализацията и активността на MMP-2, MMP-9, MMP-14 и TIMP-2 в хода на нормалното развитие на млечната жлеза и при тумори на млечната жлеза при кучето. Във връзка с постигане на така формулираната цел са поставени 6 основни задачи:

1. Определяне на хистологичния тип и класификация на кучешките тумори;
2. Имунохистохимично типизиране на кучешките тумори посредством клетъчно-специфични маркери;

3. Установяване клетъчно-специфичната локализация на MMP-2, MMP-9, MMP-14 и TIMP-2 в нормален паренхим и в тумори на млечната жлеза от кучета;
4. Проследяване динамиката на ензимната активност на MMP-2 и MMP-9 в тъканни лизати от нормален паренхим и от тумори на млечната жлеза от кучета;
5. Отчитане промяната в генната експресия на MMP-2, MMP-9, MMP-14, TIMP-2 при тумори на млечната жлеза от кучета;
6. Статистически анализ на получените резултати.

Целта е написана точно, ясно и обосновано. Поставените задачи, макар и с много подзадачи, съответстват на поставената цел.

Материалите и методите са разписани на 12 страници. Включени са редица методи като, някои от които са нови, съвременни и високоинформативни. Прави много добро впечатление използването на съвременни методи за анализ, които съответстват на поставените задачи.

Прави добро впечатление, че асистент Деспина Пупаки е използвала съвременни методи, като ги е съобщила с поставените задачи. Това позволява да даде точен отговор на поставените цели, с добре онагледени резултати.

Бих казала, че особено важно при оценката на една дисертация е начина на изписване на методите за работа. Асистент Деспина Пупаки се е постарала методите за анализ да са разписани по начин, позволяващ тяхното възпроизвеждане. Консумативите са с показана марка и производител. Предоставени са рецепти на основни буфери и разтвори. Статистическите методи са разписани подробно.

Разделът **“Резултати”** е разписан на 49, съдържа 8 таблици и 36 фигури). Всъщност, голямата тежест и значимост на труда е точно в тази част.

Представена е класификация за туморите на млечната жлеза при кучето, одобрена от СЗО през 1999 г., която е базирана главно върху описателната морфология и по-слабо отразява тяхната хистогенеза. Макар, че тази класификация максимално се доближава до класификацията за рака на гърдата, асистент Деспина Пупаки изказва становището, че характеризирането по хистогенеза е твърде неопределено.

Относно проведеното имунохистохимично типизиране на изследваните хистологични типове посредством клетъчно-специфични маркери, прави добро впечатление богатия набор от визуализиране на изследванията със снимков материал. Всички снимки са описани ясно и пригледно, така че читателят да разбере за какво се отнася. Резултатите от имунохистохимичната реактивност на различните видове МЕК наблюдавани при отделните хистологични типове са обобщени в Таблица. Доказва се, че при лобуларната хиперплазия и доброкачествените тумори, МЕК притежават имунохистохимични характеристики на напълно диференцирани МЕК.

Изследванията върху локализацията на MMP-2, MMP-9, MMP-14 и TIMP-2 и ензимна активност на MMP-2 и MMP-9 в нормален паренхим и в тумори на млечната жлеза от кучета, показват че при лобуларна хиперплазия има

отслабване на реакцията за MMP-2, MMP-9 и MMP-14 и TIMP-2 в епителните клетки, а при наличие на секреторна активност, MEK са отрицателни за MMP-2 и MMP-9, но отново дават интензивно оцветяване за TIMP-2. В нормалния паренхим и лобуларната хиперплазия преобладават неактивните форми на MMP-2 и MMP-9 и активността на двете желатинази се повишава преди придобиването на инвазивен фенотип. Също така се доказва, че активирането на MMP-9 зависи от хистологичния тип на тумора. При анализа върху промяната в генната експресия на MMP-2, MMP-9, MMP-14 и TIMP-2 при тумори на млечната жлеза се установява, че генната експресия на MMP-2, MMP-9, MMP-14 и TIMP-2 при лобуларна хиперплазия се понижава. Доказана е положителна корелация в генната експресия на MMP-2, MMP-14 и TIMP-2 при туморите на млечната жлеза при кучето.

Дискусията е разписана на 19 страници. Представени са оригиналните данни, съпоставени с оскъдните данни от литературни източници по този проблем. Всички получени резултати са обсъдени с заключителен елемент, налагащ определен извод. Прави добро впечатление точността и прецизността, с които асистент Деспина Пупаки прави разсъждения относно проведените от нея анализи и известните в тази насока изследвания. В своята последователност и логика на идеята на дисертационния труд е направеното заключение за сходството между туморите на млечната жлеза при кучето и рака на гърдата, което е обещаващ модел за бъдещи проучвания. Също така, асистент Деспина Пупаки изказва тезата, че туморите на млечната жлеза при кучето дават възможност за по-детайлно проучване на миоепителните клетки, които присъстват много по-често при кучета, в сравнение с туморите при човека. Макар тяхната роля за поддържане поляризацията и диференцираното състояние на епителните клетки да е отдавна известна и макар рядко да претърпяват злокачествена трансформация, докторанта изказва мнение, че с прогресирането на туморите е възможно, от тумор-супресори те да се превърнат в промоутъри на туморния растеж.

Дискусията завършва със заключителната част и с естествен преход към изводите, които са 9 на брой. Би могло да се обединят изводи 4 и 5 и изводи 8 и 9.

Написани са 2 страници заключение.

Дисертационният труд завършва с 6 извода с оригинален характер и 2 приноса с потвърдителен характер. Някои от направените изводи и приноси са изключително оригинални и имат значимост в практически аспект при решаването на важни аспекти в борбата с рака на гърдата.

Налична е библиографска справка с 274 цитирани литературни източника. Цитирани са предично чужди, не се регистрират пропуски в цитираните автори.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ: Представената дисертация на тема: "РОЛЯ НА ЕНДОПЕПТИДАЗИТЕ В ПАТОГЕНЕЗАТА НА ТУМОРИТЕ НА МЛЕЧНАТА ЖЛЕЗА ПРИ КУЧЕТО", разработена от асистент Деспина Ваици Пупаки, с научен ръководител доц. Павел Рашев съответства на изискванията за написване на научен труд със

съдържание на важни научни приноси с фундаментален и приложен характер. Това е в съгласие с изискванията на ЗРАСРБ и Правилника за приложение на ЗРАСРБ, Правилника на БАН и ИБИР и всички законови изисквания. Дисертационният труд съдържа значими резултати за биологичната наука, представени са приноси с иновативен характер, които имат практическо приложение и касаят важни изследвания върху ролята на ендопептидазите в патогенезата на туморите на млечната жлеза при кучето и проучвания върху генната експресия, локализацията и активността на MMP-2, MMP-9, MMP-14 и TIMP-2 в хода на нормалното развитие на млечната жлеза и при тумори на млечната жлеза при кучето.

Въз основа на представената информация, редовността на всички постъпили документи, очертания научен профил, който съответства на тематиката на обявения конкурс, както и на основание на покриването на изискуемите наукометричните изисквания по кредитната система за участие в конкурса, също както и на основание на значимостта на по-голямата част от публикациите, с които се кандидатства, както и на участието в научни конференции и симпозиуми, участието в проект и преподавателска дейност, активността на кандидатката, както и на основание на мои лични впечатления за асистент Деспина Ваици Пупаки като млад и перспективен учен с изграден облик, бих искала да кажа, че моето становище е положително и ще гласувам „За“, да се присъди на асистент Деспина Ваици Пупаки НАУЧНАТА И ОБРАЗОВАТЕЛНА СТЕПЕН „ДОКТОР“, В ОБЛАСТ НА ВИСШЕ ОБРАЗОВАНИЕ Е: 4. ПРИРОДНИ НАУКИ, МАТЕМАТИКА И ИНФОРМАТИКА; ПРОФЕСИОНАЛНО НАПРАВЛЕНИЕ 4.3. БИОЛОГИЧЕСКИ НАУКИ; НАУЧНА СПЕЦИАЛНОСТ "ФИЗИОЛОГИЯ НА ЖИВОТНИТЕ И ЧОВЕКА", ШИФЪР 01.06.17.

01.12.2016 г.
София

Подпис: 
проф. д-р Мария Иванова, дн