



РЕЦЕНЗИЯ

Относно:

Дисертационен труд за получаване на образователна и научна степен „Доктор“ на тема: **„Проучване на генетично-регулаторни механизми, включващи промоторни полиморфизми на цитокинови гени върху имунния отговор при имуно-медирирани болести“.**

Автор: Антония Антонова Григорова

Докторска програма: „Молекулярна биология“

Научен ръководител: проф. Спаска Станилова, дб, дбн

Изготвил: доц. Мария Казакова, дб

Специалност: Медицинска биология

Катедра по медицинска биология, Медицински факултет, Медицински университет - Пловдив

Външен член на научно жури със Заповед №144/11.12.2023 г.

Определена за изготвяне на рецензия с протокол от 15.12.2023 г.

Биографични данни

Антония Григорова е родена през 1986 г. в гр. София. През 2008 г. се дипломира като бакалавър по молекулярна биология в СУ „Св. Климент Охридски“. Две години по-късно (2010 г.) придобива квалификация магистър по медицинска химия в Химическия факултет на СУ „Св. Кл. Охридски“. През септември 2010 г. заема

длъжността биолог-специалист към секция „Медицинска генетика“, Тракийски университет/ТрУ/ – Стара Загора, а от 2022 г. е асистент към секция „Молекулярна биология“ към ТрУ – Стара Загора. Докторант е към катедра „Молекулярна биология, имунология и медицинска генетика“ към ТрУ- Стара Загора от 2017 г. Владее английски език.

Актуалност на тематиката

Темата на дисертационния труд за промоторните полиморфизми в цитокиновите гени, техните рецептори и връзката им с предразположението към и хода на имуно-медиирани болести при човек, е актуална, но не напълно проучена.

Дисертационният труд е написан на 174 страници и е структуриран в следните раздели: въведение, литературен обзор, цел и задачи, материали и методи, резултати, обсъждане, заключение, изводи, приноси. Библиографията съдържа 331 заглавия, по-голямата част от които са от последните няколко години.

Изложението на проблема показва компетентната теоретична подготовка на автора. Литературният обзор проследява видовете имуноен отговор, цитокините и техните рецептори, както полиморфизмите и тяхното отношение към развитието на заболявания, свързани с липсата на имунорегулация. Плавно е осъществен преходът между отделните моменти, включени в литературния обзор, което допринася за лесното възприемане на текста.

Очертани са противоречивите моменти и недостатъчно проучените аспекти, което обуславя поставената цел на дисертационния труд.

Целта е ясна, а именно проучване ефекта на промоторни полиморфизми в *TGFB1*, неговият рецептор *TGFB2* и *IL-18* върху серумните цитокинови концентрации и генетичното предразположение към имуно-медиирани заболявания.

Задачите на дисертационния труд са конкретно дефинирани и достатъчни (пет н аброй) за реализирането на поставената цел.

Разделът „Материали и методи“ представя съответно двете проучвани нозологии: пациенти с пристъпно-ремитентна множествена склероза (n=183) и пациенти с колоректален карцином (n=184), контролната група от клинично здрави доброволци (n=307), биологичните материали и реагенти. Използвани са утвърдени и информативни молекулни-биологични и имунологични методи. Статистическите методи за обработка и анализ на данните са достатъчни и подробно описани. Коректно е посочено съдействието от други колеги и звена при подбора и характеризирането на пациентите, както и получаването на част от биологичния материал.

Разделът „Резултати“ е представен ясно и убедително, а за онагледяването са използвани 30 таблици и 19 фигури. Като приложна значимост на дисертацията бих отличила няколко резултата:

1. Доказателствата, които се предоставят за асоциация на -875G/A в *TGFBR2* гена (rs3087465) SNP с генетичната предиспозиция към КРК и различните стадии на развитие;

2. За първи път се докладва за връзка между генотипа TGFB1 -509C/T, както и TGFBR2 -875G/A към генетичната предиспозиция към ПРМС. Мъжете носители на поне един TGFB1 -509T алел имат по-нисък генетичен риск от развитие на ПРМС, който е допълнително намален, когато генотипът съществува съвместно с TGFBR2 -875A алела.

Обсъждането е сбито и анализирано според получените резултати. Направени са 7 извода.

Изведени са общо 6 приноса - 4 с оригинален характер и 2 с потвърдителен характер. Бих акцентирала върху приносите с оригинален характер:

1. Доказани са полово-специфични разлики във функционалния ефект на изследваните полиморфизми при пациенти с ПРМС и КРК.
2. Установен е синергичният ефект на алели -509T в TGFB1 и -875A в TGFBR2,

които са протективни по отношение на развитието на ПРМС при мъже.

3. Установена е значимата роля на комбинация от TGFB1 -509C/C генотип и TGFB2 -875G/A + TGFB2 -875A/A генотип като рискови фактори за ранно начало на ПРМС, под 30- годишна възраст при жени.

4. Установена е протективната роля на хетерозиготното носителство по TGFB2 -875GA полиморфизма в предразположеността към КРК при мъже.

Публикации

Антония Григорова е представила три пълнотекстови публикации, които са свързани с разработването на дисертационния труд. Докторантката е първи автор в една от тях. Списанията са реферирани и са в Q2 и Q3. Представени са три участия в научни форуми. Данните от реализираното проучване са намерили отзвук в международната общност, като са забелязани 9 цитирания на посочените публикации.

Критични забележки

Всички забележки, предложени по време на проведената вътрешна защита, са взети под внимание.

Автореферат

Авторефератът представлява обобщение на дисертационния труд. Онагледен е добре с таблици и графики. Отразява основните резултати постигнати в дисертацията.

Заклучение

Дисертационният труд на тема: **„Проучване на генетично-регулаторни механизми, включващи промоторни полиморфизми на цитокинови гени върху имунния отговор при имуно-медириани болести“** с автор Антоанета Антонова Григорова с **научен ръководител проф. Спаска Станилова, дмн** е актуална научна разработка с приложна значимост. Дисертационният труд показва, че докторантката притежава задълбочени теоретични знания, планува и провежда експериментална работа, обобщава и анализира научна информация.

Считам, че дисертацията отговаря на изискванията на Закона за развитие на академичния състав в Република България и Правилника на Тракийски университет - Стара Загора. Давам **положителна оценка** и предлагам на почитаемото научно жури да присъди **образователна и научна степен „Доктор“** на Антония Антонова Григорова в докторска програма по молекулярна биология.

09.02.2024 г.

Гр. Пловдив


Доц. Мария Казакова, дб



REVIEW

regarding

dissertation work for obtaining an educational and scientific degree "Philosophy doctor" on the topic: **"Study of genetic-regulatory mechanisms involving promoter polymorphisms of cytokine genes on the immune response in immune-mediated diseases."**

Author: Antonia Antonova Grigorova

Doctoral program: Molecular Biology

Scientific Supervisor: Prof. Spaska Stanilova, PhD, DSc

Written by: Assoc. Prof. Maria Kazakova, PhD

Institution: Department of Medical Biology, Faculty of Medicine, Medical University - Plovdiv

By decision of the Chairman of the Scientific Jury (protocol №1/15.12.2023) and by order of the Rector of Trakia University - Stara Zagora (№144/11.12.2023) I have been appointed to prepare review on the dissertation work.

Brief biographical data

Antonia Grigorova was born in 1986 in Sofia city. In 2008, she graduated with a bachelor's degree in molecular biology from Sofia University „St. Kliment Ohridski”. Two years later (2010) she obtained a master's degree in medical chemistry at the Faculty of Chemistry of the Sofia University „St. Kliment Ohridski”. In September 2010, she held the position of specialist biologist at the "Medical Genetics" section, Trakia University - Stara Zagora, and from 2022 she was an assistant-professor at the "Molecular Biology" section at the Trakia University - Stara Zagora. She has been a PhD student at the Department of "Molecular Biology, Immunology and Medical Genetics" at Trakia University - Stara Zagora since 2017. She is fluent in English.

Actuality of the topic

The topic of dissertation work focused on promoter polymorphisms in cytokine genes, their receptors, and their relationship to the predisposition to and course of human immune-associated diseases is current and dissertable.

General characteristics of the dissertation work

The dissertation is written on 174 pages and is structured in the following sections: introduction, literature review, aim and objectives, materials and methods, results, discussion, conclusions, contributions. List of publications related to the dissertation work contains 331 titles, most of which are from the last few years.

The statement of the problem shows the competent theoretical preparation of the author. The literature review tracks the types of immune response, cytokines and their receptors, as well as polymorphisms and their relation to the development of diseases associated with the lack of immunoregulation. The transition between the individual moments included in the literary review is smooth, which contributes to the easy perception of the text. Controversial moments and understudied aspects are outlined, which determines the set goal of the dissertation work.

The aim is defined well: to investigate the association of selected cytokine gene polymorphisms in *TGFB1*, its receptor *TGFBR2* and *IL-18* on serum cytokine concentrations and genetic predisposition to immune-mediated diseases. The formulated tasks are precisely formulated and sufficient for the implementation of the defined purpose.

The section of Material and methods is clearly written. It presents the two studied nosologies, respectively: patients with relapsing-remitting multiple sclerosis (RRMS) (n=183) and patients with colorectal carcinoma (CRC) (n=184), the control group of clinically healthy volunteers (n=307), the biological materials and reagents. Validated and informative molecular-biological and immunological methods were used. Statistical methods for data processing and analysis are sufficient and described in detail. The assistance of other colleagues and clinics in the selection and characterization of the patients, as well as the obtaining of part of the biological material, is correctly indicated.

The section on Results is comprehensively presented. It is presented clearly and convincingly, and 30 tables and 19 figures are used for visualization. As an applied significance of the dissertation, I would distinguish several results:

1. It is determined an association of -875G/A in the *TGFBR2* gene (rs3087465) SNP with the genetic predisposition to CRC and the different stages of development.

2. For the first time, an association between the genotype *TGFB1* -509T as well as *TGFBR2* -875G/A to the genetic predisposition to RRMS is reported. Male carriers of at least one *TGFB1* -509T allele have a lower genetic risk of developing PMS, which is further reduced when the genotype coexists with the *TGFBR2* -875A allele.

The discussion is summarized and analyzed according to the results obtained. Seven conclusions were formulated. A total of 6 contributions were presented - 4 of an original nature and 2 of a confirmatory nature. I would emphasize contributions of an original ones:

1. Sex-specific differences in the functional effect of the investigated polymorphisms in patients with RRMS and CRC were found.

2. The synergistic effect of alleles -509T in *TGFB1* and -875A in *TGFBR2* was established, which are protective regarding the development of RRMS in men.

3. The significant role of a combination of *TGFB1* -509C/C genotype and *TGFBR2* -875G/A + *TGFBR2* -875A/A genotype as risk factors for early onset of RRMS, under 30 years of age in women.

4. The protective role of the heterozygous carrier of the *TGFBR2* -875GA polymorphism in the predisposition to CRC in men has been established

Abstract

The abstract reflects the content of the dissertation. It is well structured and illustrated. It reflects the main results achieved in the dissertation.

Critical notes and recommendations

All critical comments offered by the preliminary reviewers and members of the Department have been discussed and considered in the final format of the dissertation.

Publications

Antonia Grigorova has presented three full-text publications that are related to the development of the dissertation work. The doctoral student is the first author in one of them. The journals are refereed, respectively Q2 and Q3. Three presentations in scientific forums are presented. The data from the conducted research found a visibility in the international community, as 9 citations of the mentioned publications were noticed.

Conclusion

The dissertation work on the topic: "**Study of genetic-regulatory mechanisms involving promoter polymorphisms of cytokine genes on the immune response in immune-mediated diseases**" with author Antonia Antonova Grigorova and scientific supervisor Prof. Spaska Stanilova, contains scientific and applied results. The doctoral thesis demonstrates that the doctoral candidate possess in-depth theoretical knowledge, plans, and conducts experimental work, summarizes, and analyzes scientific information.

Based on the above, I consider that the dissertation work of Antonia Grigorova complies with the requirements of the Academic staff development Act of the Republic of Bulgaria, and the Regulations for Academic development at Trakia university – Stara Zagora. I give a *positive assessment* and *propose* to the Scientific jury to award the educational and scientific degree of "Doctor" to Antonia Antonova Grigorova in doctoral program in Molecular Biology.

09.02.2024

Reviewer:

Assoc. Prof. Maria Kazakova, PhD