



СТАНОВИЩЕ

От: Проф. дхн Веселина Георгиева Гаджева,
Катедра „Медицинска химия и биохимия“, Медицински факултет,
Тракийски Университет, Стара Загора
по дисертационния труд на Елина Александрова Александрова
на тема: „Генетични и клетъчни фактори на имунната система при колоректален
карцином“, за присъждане на образователната и научна степен „Доктор“ в Област на
висшето образование 4. „Природни науки, математика и информатика“, Професионално
направление 4.3. Биологически науки, научна специалност: „Биохимия“

1. Лични и професионални данни на докторанта.

Елина Александрова завършва Биологическия факултет на СУ „Св. Климент Охридски“ през 2006 г. ОКС „Бакалавър“, специалност „Молекулярна биология“, а през 2009 г. получава ОКС „Магистър“ по „Медицинска химия“. От 2009г. работи към лаборатория по Молекулярна патология, Медицински факултет, Тракийски университет на длъжност биолог. През периода на работа в лабораторията, Елина Александрова показва мотивираност, знания, подготовка и практически умения, които са предпоставка за записването след успешно положен изпит през 2014г. в редовна докторантура към катедра „Медицинска химия и биохимия“, Медицински факултет на Тракийски Университет - Стара Загора. От 23.05 2017 г. е отчислена с право на защита.

Елина Александрова е участвала в разработването и изпълнението на 12 научно-изследователски проекти. Тя е носител на награда за активна публикационна дейност за 2018 г от ТрУ - Ст. Загора. Участник е в Националната научна програма “Млади учени и постдокторанти”.

2. Преценка актуалността на разработвания в дисертационния труд проблем.

Научноизследователската дейност на Елина Александрова е свързана с актуален и значим за човешкото здраве проблем - колоректален карцином (КРК), малигнено заболяване което заема водещо място по смъртност в световен мащаб. През последните години нараства интересът към проучване и изясняване патогенезата и молекулните механизми на КРК, с цел подобряване на терапията и качеството на живот на онко болните. Предвид това, че дисертационният труд е насочен към изясняване патогенетичните механизми на процесите, водещи до появата и прогресията на КРК, го оценявам като актуален.

3. Преценка на структурата и съдържанието на дисертационния труд.

Представеният дисертационен труд по обем и съдържание съответства на изискванията на ЗРАСРБ, ППЗРАСРБ и ПРАСТрУ - обем 123 стандартни страници и онагледен с 48 фигури и 16 таблици. Съдържа: Въведение – 2 стр., Литературен обзор – 28 стр., Цел и задачи -2 стр., Материал и методи – 9 стр., Резултати– 40 стр., Обсъждане

– 15 стр., Изводи – 1 стр., Приноси – 1 стр., Библиография – 25 стр. включваща 276 литературни източника.

От **Литературния обзор** е видно, че докторантката е запозната детайлно с публикуваната в световната литература информация по разработваната тема. Направено е описание на колоректален карцином (КРК) и са представени съвременни данни за епидемиологията и молекулярната патогенеза на заболяването. Разгледани са задълбочено: ролята на дендритните клетки (ДК) в изграждането на противотуморния имунитет като една от първите защитни линии в борбата на организма с нововъзникващия тумор, двойствената роля на TGF- β 1 в канцерогенезата, модулиращата роля на интерлевкин 12 (IL-12), ролята на IL-10 в противотуморния имунитет, както и ролята на цитокините IL-17A и IL-17F в патогенезата на КРК. Направен е задълбочен анализ на литературните данни и заключение показващо, че в комбинация с генетичната предразположеност, съставът на възпалителната микросреда в заболелите индивиди се откроява като значим фактор в туморогенезата на КРК.

Въз основа на литературните данни, докторантката формулира **целта** на дисертационния труд: изясняване ролята на генетични полиморфизми в гени, кодиращи възлови цитокини в имунната регулация, за развитието и прогресията на колоректален карцином в извадка от Българската популация, както и да се проучи зависимостта между установените генотипи и инфилтрацията на туморната тъкан с различни популации дендритни клетки. За изпълнение на целта са формулирани 6 конкретни **задачи**.

За изпълнение на целите на дисертационния труд са изследвани ретроспективно и проспективно общо 256 случая на колоректален карцином. Експерименталните изследвания са проведени с използването на съвременна апаратура и разнообразни **методи** - биохимични, молекулярно-генетични, клетъчно-биологични, имунологични, статистически и др. Докторантката е овладяла редица технически умения и компетентности като: работа с биологичен материал, кръв, свежа тъкан от биопсичен материал, екстракция на ДНК, амплификация с PCR и генотипиране чрез рестрикционен анализ, генна експресия чрез Real-time PCR и др.

Пациентите с колоректален карцином са генотипирани по отношение на 5 еднонуклеотидни полиморфизми в цитокинови гени (TGFB1 -509C/T, IL10 -1082A/G, IL12Bpro, IL17A -197A/G и IL17F 7488T/C). Чрез имунохистохимичен анализ на експресията на клетъчните маркери S100, CD1a, CD11c, CD123 и CD83 са охарактеризирани различни популации дендритни клетки в туморната микросреда. Считаю, че висока научна стойност имат всички **резултати**, които доказват ролята на изследваните генетични полиморфизми и маркери за предразположението, прогресия и преживяемост на пациентите с КРК, като например: установеният протективен ефект на носителството на TGFB1 -509 TT-генотипа и същевременно асоциацията му с по-кратка преживяемост и по-висок брой незрели ДК в туморното микроокръжение в сравнение с носителите на C-алела; установеният незначим ефект на IL10 -1082A/G; IL17F 7488 T/C и IL12Bpro полиморфизмите, върху генетичната предиспозиция, но вероятно

повлияването на IL10 -1082A/G и IL12Vpro върху съзряването на ДК. Резултатите са **обсъдени** компетентно и сравнени с други описани в литературата. Интерпретирани са в посока ролята на изследваните маркери като фактор в прогресията и изхода от КРК. Въз основа на получените резултати са направени 6 научно-теоретични **приноси** на дисертационния труд – 2 оригинални и 4 потвърдителни, които доказват високата научна стойност на дисертационния труд и ролята на изследваните гени и маркери за генетичното предразположение, прогресия и преживяемост на пациентите с КРК

4. Преценка на наукометричните показатели за представените материали

Елина Александрова представя **3 научни статии** в пълен текст по темата на дисертацията, **в списания с импакт фактор, ранкирани в Q3**. В една от тях докторанта Елина Александрова е първи автор (IF₂₀₁₇=1.766), и са забелязани общо 4 цитата от чуждестранни автори. Резултатите от дисертацията са представени също на 6 научни форума (4 в чужбина и 2 в страната), в 5 от които Е. Александрова е първи автор. Публикационната дейност на докторантката е в съответствие с изискванията, определени в Правилника на ТрУ и изискуемите минимални изисквания съгласно ЗРАСРБ за научно-образователна степен „доктор“ в област 4. Природни науки, математика и информатика; Професионално направление 4.3. Биологически науки

Авторефератът е оформен според изискванията и отразява основните резултати, тяхното обсъждане, изводи и научните приноси на дисертационния труд.

Заключение:

Чрез своя дисертационен труд **Елина Александрова Александрова** се представя като отлично подготвен специалист, със солидни знания по биохимия и молекулярна биология. Докторантката е овладяла редица експериментални умения и компетентности. Може самостоятелно да провежда научни изследвания на високо ниво, да интерпретира задълбочено научните резултати и да ги представи за публикуване в престижни списания. Публикуваните от нея 3 научни статии в пълен текст, в списания с импакт фактор, ранкирани в Q3 показват високата научна стойност на дисертационния труд.

Всичко това ми дава основание убедено да гласувам положително, за присъждане на Елина Александрова Александрова ОНС „Доктор“ в област 4. Природни науки, математика и информатика; Професионално направление 4.3. Биологически науки по научна специалност „Биохимия“.

04.09. 2019 г.

Изготвил становището:

(проф. дхн Веселина Гаджева)

PhD Thesis Position

From **Prof. DSc Veselina Georgieva Gadzheva**,
Department of Medical Chemistry and Biochemistry, Faculty of Medicine, Trakia University-
Stara Zagora

Concerning the **PhD Thesis** of **Elina Aleksandrova Alexandrova** themed: "*Genetic and cellular factors of the immune system in colorectal cancer*", for awarding educational and scientific degree "**Doctor**" in the field of higher education 4. "Natural sciences, mathematics and informatics", Professional field 4.3. Biological Sciences, speciality: **Biochemistry**

1. Personal and professional data of the doctoral student.

Elina Aleksandrova graduated from the Faculty of Biology at Sofia University "St. Kliment Ohridski" with a Bachelor's Degree in Molecular Biology in 2006 and received a Master's Degree in Medical Chemistry in 2009. Since 2009 he has worked at the Laboratory of Molecular Pathology, Faculty of Medicine, Trakia University at position of biologist. During the period of work in the laboratory, Elina Aleksandrova has shown the motivation, knowledge, preparation and practical skills that are a prerequisite for enrollment after successfully passing the exam in 2014 in full-time doctoral studies at the Department of Medical Chemistry and Biochemistry, Faculty of Medicine, Trakia University - Stara Zagora. Since May 23, 2017, she has finished the doctoral programme with the right of defense. Elina Aleksandrova has participated in the development and implementation of 12 research projects. She is the recipient of an active publication award for 2018 by the Trakia University - St. Zagora. She is a participant in the National Scientific Program "Young Scientists and Postdoctoral Fellows".

2. Assessment of the relevance of the dissertation.

Elina Aleksandrova's research is related to a topical and significant human health problem - colorectal cancer (CRC), a malignant disease that holds the leading positions in mortality worldwide. In recent years, there has been increasing interest in the study and elucidation of the pathogenesis and molecular mechanisms of CRC in order to improve the therapy and quality of life of cancer patients. Given that the thesis is aimed at clarifying the pathogenetic mechanisms of the processes leading to the incidence and progression of CRC, I consider it relevant.

3. Assessment of the structure and content of the dissertation.

In terms of volume and content the submitted dissertation complies with the requirements of the ZRASRB, PRZRASRB and PROSTRU, namely 123 standard pages illustrated with 48 figures and 16 tables. It contains the following chapters: Introduction - 2 pages, Literature Review - 28 pages, Objectives and Tasks - 2 pages, Materials and Methods - 9 pages, Results - 40 pages, Discussion - 15 pages, Conclusions - 1 page, Contributions - 1 page, Bibliography - 25 pages, including 276 literature sources.

It is evident from the Literature Review that the doctoral student is thoroughly acquainted with the information published in the world literature on the topic being discussed. A description of colorectal carcinoma (CRC) has been made and current data on the epidemiology and molecular pathogenesis of the disease are presented. The role of dendritic cells (DCs) in the construction of antitumor immunity as one of the first protective lines in the fight against the emerging tumor, the dual role of TGF- β 1 in carcinogenesis, the modulating role of interleukin 12 (IL-12), are discussed in detail. The role of IL-10 in antitumor immunity, and the role of the cytokines IL-17A and IL-17F in the pathogenesis of CRC. An in-depth analysis of the literature and a conclusion has been drawn showing that, in combination with genetic predisposition, the composition of the inflammatory microenvironment in diseased individuals stands out as a significant factor in the carcinogenesis of CRC.

Based on the literature, the doctoral student formulates the **purpose** of the dissertation: to clarify the role of genetic polymorphisms in genes encoding key cytokines in the immune regulation, for the development and progression of colorectal cancer in a cohort from the Bulgarian population, as well as studying the association of the genotypes with tumor tissue infiltration with different dendritic cells populations. Six specific **tasks** have been formulated to accomplish the purpose.

A total of 256 cases of colorectal cancer have been retrospectively and prospectively examined for the purpose of the thesis. The experimental studies have been carried out using modern equipment and various methods - biochemical, molecular-genetic, cell-biological, immunological, statistical, etc. The PhD student has mastered a number of technical skills and competencies such as: working with biological material, blood, and fresh tissue from biopsy material, DNA extraction, PCR amplification and genotyping by restriction analysis, gene expression through Real-time PCR, etc.

Patients with colorectal cancer were genotyped with respect to 5 single nucleotide polymorphisms in cytokine genes (*TGFB1* -509C / T, *IL10* -1082A / G, *IL12Bpro*, *IL17A* -197A / G and *IL17F* 7488T / C). Immunohistochemical analysis of the expression of the cell markers S100, CD1a, CD11c, CD123, and CD83 characterizing different populations of dendritic cells in the tumor microenvironment. I believe that all results proving the role of the investigated genetic polymorphisms and markers for the predisposition, progression and survival of patients with CRC, such as: the established protective effect of *TGFB1* -509 TT genotype and its association with shorter survival and higher number of immature DCs in the tumor microenvironment compared to C-allele carriers at the same time, have high scientific value as well as the negligible effect observed for *IL10* -1082A / G; *IL17F* 7488 T / C and *IL12Bpro* polymorphisms for CRC susceptibility and the possible effect of *IL10* -1082A / G and *IL12Bpro* on DC maturation.

The results have been discussed competently and compared with others reported in the literature. The role of the studied markers has been interpreted as a factor in the progression and outcome of the CRC. Based on the obtained results, 6 scientific-theoretical contributions of the dissertation were drawn - 2 original and 4 confirmatory, which prove the high scientific value of the dissertation work and the role of the studied genes and markers for the genetic predisposition, progression and survival of patients with CRC.

4. Evaluation of the scientific indicators for the submitted materials

Elina Aleksandrova presents **3** scientific articles in full text on the topic of the dissertation, in Impact Factor Magazines, ranked in **Q3**. In one of them the PhD student Elina Aleksandrova is the first author ($IF_{2017} = 1.766$), and a total of 4 quotes from foreign authors were noticed. The results of the dissertation are also presented in 6 scientific forums (4 abroad and 2 in the country), in 5 of which E. Aleksandrova is the leading author.

The doctoral student's publishing activity is in accordance with the requirements set out in the Rules of Trakia University and the required minimum in accordance with the Law for the scientific and educational degree "Doctor" in field 4. Natural sciences, mathematics and informatics; Professional area 4.3. Biological Sciences.

The **abstract** is designed according to the requirements and reflects the main results, their discussion, conclusions and scientific contributions to the dissertation.

Conclusion:

With her dissertation, Elina Aleksandrova Aleksandrova introduces herself as a well-prepared specialist, with solid knowledge of biochemistry and molecular biology. The doctoral student has mastered a number of experimental skills and competences. She can conduct high-level research on her own, thoroughly interpret scientific results and submit them for publication in prestigious journals. She has published 3 scientific articles in full text, in Impact factor journals, ranked in Q3, showing the high scientific value of the dissertation.

All of the above gives me a reason to **vote positively**, for awarding Elina Aleksandrova Aleksandrova with the title Doctor of Science in field 4. Natural sciences, mathematics and informatics; Professional area 4.3. Biological Sciences in specialty "Biochemistry".

04.09. 2019 г.

Prof. DSc Veseilna Gadzheva