

## РЕЦЕНЗИЯ

от доц. д-р Анелия Веселинова Биволарска, дб  
Катедра по медицинска биохимия, Фармацевтичен факултет,  
Медицински Университет - Пловдив

на дисертационен труд за присъждане на образователната и научна степен „доктор“

в област на висше образование **4. Природни науки, математика и информатика**

професионално направление **4.3 Биологически науки**

докторска програма **Клетъчна биология**

**Автор:** *Десислава Иванова Колчакова*

**Тема:** ***ФУНКЦИОНАЛЕН АНАЛИЗ НА ПРОТЕИНА КЛАУДИН ПРИ ТУМОРНИ КЛЕТЪЧНИ ЛИНИИ***

**Научни ръководители:** *Проф. д-р Балик Маломиров Джамбазов - ПУ „Паисий Хилендарски“*

*Доц. д-р Цветелина Георгиева Бацалова - ПУ „Паисий Хилендарски“*

### **1. Общо описание на представените материали**

Със заповед № Р33-2154 от 11.06.2021г. на Ректора на Пловдивския университет „Паисий Хилендарски“ (ПУ) съм определена за член на научното жури за осигуряване на процедура за защита на дисертационен труд на тема „***Функционален анализ на протеина клаудин при туморни клетъчни линии***“ за придобиване на образователната и научна степен ‘доктор’ в област на висше образование **4. Природни науки, математика и информатика**, професионално направление **4.3 Биологически науки**, докторска програма **Клетъчна биология**. Автор на дисертационния труд е **Десислава Иванова Колчакова** – докторант в редовна форма на обучение към катедра „**Биология на развитието**“ с научни ръководители **проф. д-р Балик Маломиров Джамбазов** и **доц. д-р Цветелина Георгиева Бацалова** от ПУ „**Паисий Хилендарски**“.

Представеният от Десислава Колчакова комплект материали на хартиен носител е в съответствие с Чл.36 (1) от Правилника за развитие на академичния състав на ПУ, включва следните документи:

- молба до Ректора на ПУ за разкриване на процедурата за защита на дисертационен труд;
- автобиография в европейски формат;
- протокол от катедрения съвет, свързан с докладване на готовността за откриване на процедурата и с предварително обсъждане на дисертационния труд;
- дисертационен труд;
- автореферат;
- списък на научните публикации по темата на дисертацията;
- копия на научните публикации;
- декларация за оригиналност и достоверност на приложените документи;
- справка за спазване на специфичните изисквания на съответния факултет (само за докторантите зачислени до 04.05.2018 г.);

Докторантът е приложил 2 публикации, от които едната с импакт фактор за 2019 - 4.082, Q1, и участие в 1 научен форум.

## **2. Кратки биографични данни за докторанта**

Десислава Колчакова е завършила средното си образование в Немска езикова гимназия - Пазарджик през 2011 г. През 2015 г. придобива бакалавърска степен по биология в ПУ „Паисий Хилендарски“, а през 2016 г. - Магистратура по Репродуктивна биология към същия университет. На 01.03.2017 г. тя е зачислена за редовен докторант по Клетъчна биология към Пловдивски университет „Паисий Хилендарски“, Биологически факултет, Катедра „Биология на развитието“. През учебната 2019/2020 е работила като асистент към същата катедра.

## **3. Актуалност на тематиката и целесъобразност на поставените цели и задачи**

Според National Cancer Institute на САЩ, през 2018 г. е имало 18,1 милиона нови случая и 9,5 милиона смъртни случая, свързани с рак. До 2040 г. броят на новите случаи на рак годишно се очаква да нарасне до 29,5 милиона, а броят на смъртните случаи, свързани с рака на 16,4 милиона. Тази статистика недвусмислено показва нуждата от изследвания в областта на канцерогенезата, диагностиката и лечението на рака. Метастазите са една от основните характеристики на злокачествените тумори, а една от най-честите причини за тях са нарушенията в междуклетъчните контакти. Протеините от семейството на клаудините участват в структурата на плътните контакти. Има данни, че свръхекспресията на клаудин - 12 значително увеличава метастазирането при човешки бронхиални епителни клетки. Ролята на клаудин-12 за миграцията на раковите клетки през плътните контакти по време на метастазиране, както и за модулиране действието на вещества с противораков ефект, не е изяснена, което е и

целта на настоящия дисертационен труд. Ето защо, представеният ми за рецензиране труд, озаглавен „Функционален анализ на протеина клаудин при туморни клетъчни линии“, в който е проучена ролята на клаудин-12 в процеса на клетъчната миграция, с оглед регулиране на туморогенезата, както и модулиране на инхибиращия ефект на вещества с антитуморно действие, е актуален и резултатите от него ще допринесат за изясняване на нови механизми в клетъчната миграция, съответно на туморните метастази, както и ролята на клаудин-12 за виталността на клетките и използването му като туморен маркер в диагностиката и перспективна цел за разработване на антитуморна терапия.

#### **4. Познание на проблема**

Литературният обзор е стегнат, логичен и последователен и е написан на добър научен език. Детайлната му разработка, включваща богата литературна справка, както и критичното и аналитично представяне на данните, показва добро познание на проблема от докторантката. Обстойно е направена обща характеристика на клаудиновите протеини, разгледана е структурата им, както и кодиращите ги гени. Специално внимание е обърнато на функциите на първите 19 клаудинови протеини и още по-специално на клаудин 12.

Целта е формулирана ясно и точно и съответства на заглавието и възможностите на проучването. Литературният обзор е илюстриран с 4 фигури, повечето преведени на български език, които много успешно подпомагат възприемането на информацията в текста. На основата на богатия литературен обзор са изведени ясно и конкретно целта и 9 задачи на дисертационната работа.

#### **5. Методика на изследването**

Разделът “Материали и методи” е развит много подробно, задълбочено, с изчерпателност, която дава възможност за възпроизводство на лабораторните методи. Избраната методика на изследване е съвременна и позволява постигане на поставената цел и получаване на адекватен отговор на задачите, решавани в дисертационния труд. При експериментите са използвани *in vitro* култури от подбрани девет човешки клетъчни линии. Използваните методи в дисертационния труд са от арсенала на съвременни молекулярно-биологични методи като имуноцитохимия и Western blot за детекция на клаудин-12, *in vitro* тестове за анализ на цитотоксичност, антитуморна активност, клоногенна ефективност и клетъчна пролиферация, тест за измерване концентрацията на АТФ с луминометър, тестове за клетъчната миграция, както и анализи, базирани на поточна цитометрия.

## 6. Характеристика и оценка на дисертационния труд

Представеният ми за рецензиране дисертационен труд е написан на 106 страници, илюстриран е с 24 фигури и 2 таблици. В дисертацията са цитирани общо 195 литературни източници, от които един на кирилица. Прави добро впечатление актуалността на литературните източници като около 30% от тях са публикувани през последните 10 години (от 2012). Липсата на номериране на цитираната литература затруднява изброяването ѝ.

Дисертационният труд е структуриран по следния начин. 2 стр. Въведение; 2 стр. Съкращения; 23 стр. Литературен обзор; 1 стр. Цел и Задачи; 16 стр. Материали и Методи; 28 стр. Резултати; 10 стр. Обсъждане; 2 стр. Изводи; 1 стр. Приноси; 17 стр. Литература; 1 стр. Списък с публикации.

## 7. Приноси и значимост на разработката за науката и практиката

Докторантката представя в края на дисертационния си труд **4 оригинални научни приноси**. **За първи път** е изследвана ролята на протеина клаудин-12 за миграция на туморните клетки през CLDN12-експресиращи тъкани в процеса на метастазиране, като се демонстрира, че блокирането на този протеин води до значително редуциране на клетъчната миграция, съответно на туморните метастази. **За първи път** се изследва ролята на протеина клаудин-12 за миграция на туморни клетки през формиращи клетъчни слоеве, съдържащи плътни междуклетъчни контакти, в които участва клаудин-12, като се показва, че липсата или блокирането на клаудин-12 предотвратява преминаването на туморни клетки през междуклетъчните контакти, което би имало инхибиращ ефект за процеса на метастазиране. **За първи път** се изследва ролята на протеина клаудин-12 за виталността на клетките, които го експресират, като се показва, че неговото блокиране води до индуциране на апоптоза и съответно инхибиране на клетъчната пролиферация. **За първи път** се изследва участието на клаудин-12 в модулиране на антитуморното действие на някои нискомолекулни вещества от групата на s-триазините. **Научен принос с потвърдителен характер** е потвърдената експресия на клаудин-12 при туморни клетки с епителен произход, изолирани от бял дроб и дебело черво.

Представените резултати определят и много важен **научно-приложен принос**, с възможност за **внедряване** в медицинската практика, свързан с използването на клаудин-12 като подходящ **биомаркер за туморното развитие** и метастази и перспективна цел за разработване на **антитуморна терапия**. Това дава **перспективи** за продължение на изследванията в тази област на докторантката и нейния екип.

## **8. Преценка на публикациите по дисертационния труд**

Списъкът на публикациите, свързани с дисертационния труд включва едно участие на научен форум и 2 статии в чуждестранни списания през периода 2018-2021, като Десислава Колчакова е първи автор в едната и втори в другата статия в съавторство с научните си ръководители на английски език. Публикациите отразяват конкретни резултати постигнати в дисертационния труд, което е доказателство за приноса на докторантката в осъществяването на изследванията, в анализирането на резултатите и в подготовката на научните статии. Едната статия (Kolchakova et al.,2021) е публикувана в списание *Biomolecules*, с висок импакт фактор (Q1, SJR<sub>2029</sub> 4.082), което недвусмислено показва оценката на други външни специалисти относно резултатите и приносите на този труд.

## **9. Лично участие на докторанта(ката)**

Мястото на първи и втори автор в публикуваните статии и участието в представянето на резултатите на научен форум отново като първи автор показват личното участие на докторанта в проведеното дисертационно изследване. Представените материали по процедурата, както и представената декларация за оригиналност на представените данни, показват, че лабораторните изследвания в дисертационния труд са проведени с личното участие на докторант Десислава Колчакова. Представеният дисертационен труд, формулирането на изводите и приносите са нейна лична заслуга.

## **10. Автореферат**

Авторефератът е структуриран според изискванията и коректно отразява основните резултати, постигнати в дисертацията.

## **11. Критични забележки и препоръки**

Забелязани са единични неточности, които по същество не променят общото положително впечатление от работата и постигнатите резултати.

## **12. Лични впечатления**

Не познавам и нямам лични впечатления от докторантката.

## **13. Препоръки за бъдещо използване на дисертационните приноси и резултати**

Препоръчвам на докторантката да продължи изследванията си върху клаудините с използване на животински експериментален модел за осигуряване на по-естествена среда на действие, както и изследвания върху калциево-фосфорната обмяна и недостатъчно проучената роля вит. Д3 в парацелуларната абсорбция на калций.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Дисертационният труд *съдържа научни и научно-приложни резултати, които представляват оригинален принос в науката* и отговарят на всички изисквания на Закона за развитие на академичния състав в Република България (ЗРАСРБ), Правилника за прилагане на ЗРАСРБ и съответния Правилник на ПУ „Паисий Хилендарски“. Представените материали и дисертационни резултати **напълно** съответстват на специфичните изисквания на специфичните изисквания на Биологическия факултет, приети във връзка с Правилника на ПУ за приложение на ЗРАСРБ.

Дисертационният труд показва, че докторантката **Десислава Иванова Колчакова притежава** задълбочени теоретични знания и професионални умения по научна специалност **Клетъчна биология** като **демонстрира** качества и умения за самостоятелно провеждане на научно изследване.

Поради гореизложеното, убедено давам своята *положителна оценка* за проведеното изследване, представено от рецензираните по-горе дисертационен труд, автореферат, постигнати резултати и приноси, и *предлагам на почитаемото научно жури да присъди образователната и научна степен „доктор“* на **Десислава Иванова Колчакова** в област на висше образование: в област на висше образование 4. Природни науки, математика и информатика, професионално направление 4.3 Биологически науки, докторска програма Клетъчна биология.

06.07. 2021 г.

Рецензент: .....  
доц. д-р Анелия Веселинова Биволарска, дб