

## **РЕЦЕНЗИЯ**

на дисертационния труд **„РОЛЯ НА ФАКТОРИ МОДУЛИРАЩИ  
ИНДИВИДУАЛНИЯ РЕПАРАЦИОНЕН КАПАЦИТЕТ ВЪВ  
ФИЗИОЛОГИЧНИ И ПАТОЛОГИЧНИ УСЛОВИЯ“**

представен за придобиване на научната степен ДОКТОР от докторантката  
ПАВЛИНА ЙОРДАНОВА ЧЕЛЕНКОВА

От: чл. кор. проф. ГЕОРГИ ХРИСТОВ РУСЕВ, дбн

Дисертационният труд „РОЛЯ НА ФАКТОРИ МОДУЛИРАЩИ ИНДИВИДУАЛНИЯ РЕПАРАЦИОНЕН КАПАЦИТЕТ ВЪВ ФИЗИОЛОГИЧНИ И ПАТОЛОГИЧНИ УСЛОВИЯ“ с автор Павлина Челенкова представен за придобиване на научната степен “Доктор“ в научната специалност “Молекулярна биология” е изработен под ръководството на доцент Стоян Чакъров в катедрата по биохимия на БФ на СУ „Св. Кл. Охридски“. Той е посветен на ролята на репарация на ДНК при патологичните процеси. Дълги години изследователите в областта на генетиката считаха, че гените представляват специфични структурни елементи, които се предават и комбинират в потомството по различни начини, но самите те остават неизменни. Едва през последните няколко десетки години, с развитието на експерименталните молекулярни методи за изследване и анализ на генетичния материал, стана ясно, че молекулите на ДНК в живите организми са обект на постоянни атаки и увреждания от различни ендогенни и екзогенни фактори, и че причината за тяхната стабилност не се дължи на тяхната устойчивост, а на факта, че след увреждане, те бързо и ефективно се поправят. Идеята, че гените, които представляват сегменти от ДНК са динамични структури, постави много въпроси както от теоретичен, така и от практичен характер. Така например, очевидно е, че индивиди, които имат по-голяма способност да поправят увредената ДНК ще са по-неподатливи на генетични заболявания отколкото индивиди, които имат по-малка способност за поправка. От друга страна

очевидно е, че индивиди които имат по-голяма способност да поправят увредена ДНК ще са по-нечувствителни към действието на различни генотоксични агенти, каквито са повечето противоракови и други препарати, отколкото индивиди с по-малка репаративна способност. Така се зароди концепцията за индивидуалния репарационен капацитет и неговото използване като диагностичен и прогностичен маркер. Това е едно ново направление в бързо-развиващата се област на т.н. „персонализирана медицина“ и в този смисъл аз считам, че дисертационния труд на Павлина Челенкова представлява едно пионерно изследване от голямо теоретично и практическо значение.

Дисертационният труд е написан на 167 страници и съдържа 4 фигури и 12 таблици. Цитираната литература обхваща 287 заглавия, по голямата част от които са отпечатани през последните няколко години в престижни международни списания. Той е организиран по общоприетия начин и се състои от следните раздели: Литературен обзор, Конкретни задачи, Материали и методи, Резултати и дискусия, Основни изводи и Научни приноси. В литературния обзор докторантката е направила задълбочен преглед на процесите на репарация на ДНК и изчерпателно е разгледала концепцията за индивидуален репарационен капацитет. Разгледани са различните репарационни пътища и са обсъдени възможностите различни индивидуални генетични маркери и панели от маркери да се използват за оценка както на репарационния капацитет, така и за оценка на риска за възникване на патологични състояния като тромбози и церебрална амилоидна ангиопатия. Разгледана е също така и възможността дължината на теломерите да се използва като маркер с прогностична стойност. В раздела Конкретни задачи е формулирана ясно конкретната цел на настоящото изследване, а именно да се изследва ролята на фактори, модулиращи индивидуалния репарационен капацитет при човека във физиологични и патологични условия чрез анализ на ДНК. По нататък са изброени 12 конкретни задачи чрез които да се постигне тази цел. Те включват подбор и анализ на молекулни маркери по отношение на заболявания, за които се предполага, че са свързани с намаление на репаративния капацитет, каквито са церебрално-съдовите инциденти. Всички задачи са добре дефинирани и

изпълнението им би довело до валидирането на панели от маркери, които биха могли да имат диагностична и прогностична стойност. В раздела Материали и методи е описано набирането на клиничен материал и различните молекулярно биологични процедури за анализ и оценка. Изолирана е ДНК от 93 клинично здрави индивида от двата пола, които представляват контролната група и 70 пациенти с церебрално-съдови инциденти също от двата пола. При анализа са използвани модерни методи като различни електрофоретични техники за откриване на полиморфизми в ДНК, полимеразна верижна реакция, имунохимични методи и др. Всички методи са адекватни за решаване на поставените задачи и гарантират високо ниво на достоверност на получените резултати.

В комбинирания раздел Резултати и обсъждане е направен преглед на получените резултати и тяхното значение. В литературата има данни, че нарушения в клетките на ендотела на кръвоносните съдове и неефективното им отстраняване води до образуване на тромби и артериално-съдови инциденти. За оценка на ролята на индивидуалния репарационен капацитет докторантката е изследвала полиморфизмите в гените кодиращи продукти участващи в разпознаването на увреждания и при поправката на ДНК като XPC, XPD, ERCC1, XRCC1, P53, както и на други гени участващи в репарацията на ДНК в норма и патология. В най-общия случай това са еднонуклеотидни замени, въпреки, че в някои случаи са наблюдавани инсерции или делеции. Те са идентифицирани след *in vitro* амплификация на участъците носещи съответните полиморфизми и чрез PCR-RFLP анализ. Използван е панел от 11 генетични маркера, участващи в поправката на ДНК и са проведени изследвания върху групи от клинично здрави индивиди за да се определи референтен композитен генотип на клинично здравите индивиди. Той е сравнен с генотипа на пациенти с церебрално-съдови инциденти, при което са намерени статистически достоверни разлики. Съставен е най-често срещания композитен генотип при пациентската група и е намерено, че той се различава от този на контролната група. В повечето гени, както и при дължината на теломерите разликите не са значителни с изключение на гена за продукта XPC, който е основен фактор в

поправката на ДНК чрез изрязване на нуклеотиди. При него са установени значителни разлики в разпределението на алелите *ins* и *del* като в пациентската група генотипа *ins/del* се среща значително по често отколкото генотипа *del/del*. Подобен е и случая с гена *APOE*, при които в пациентската група генотиповете са разпределени по различен начин от контролната група. Считам, че тези наблюдения, макар и в начална фаза имат голям прогностичен потенциал и разпределението на алелите на *APOE* и *XPC*, както и на някои други локуси, могат за в бъдеще да да служат за оценка на риска от церебрално-съдови инциденти. При други изследвания са идентифицирани генетично-обусловени рискови фактори за възникване и развитие на карцином на млечната жлеза с прогностична стойност. В раздела Научни приноси са формулирани 8 приноса с оригинален научен характер и 3 приноса с потвърдителен характер. Оригиначните приноси включват идентифицирането на генетични фактори свързани с повишен риск от церебрално-съдови инциденти в българската популация и генетично обусловен рисков фактор на индивидуалния репаративен капацитет свързан с повишен риск от карцином на млечната жлеза при жените. Също така, за пръв път е определен репарационния капацитет на 2 референтни клетъчни линии Jurkat E6-1 и T1301.

Получените резултати са публикувани в 8 научни статии и са докладвани на 8 научни форуми и конференции. Запознах се с проекта за Автореферат и считам, че той правилно отразява по-важните научни достижения описани в дисертацията.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

С тези изследвания настоящият дисертационен труд поставя основите за създаване на протокол за оценка на риска за възникване на генетично-обусловени заболявания на базата на параметъра индивидуален репарационен капацитет определен чрез панел от генетични маркери. Това е от изключително значение, тъй като според съвременните схващания всички патологии свързани с напредналата възраст, както и онкологичните заболявания имат генезиса си в неефективната репарация на ДНК. Докторантката е приложила модерни

методични подходи за да постигне резултати в една пионерна област на медицината, каквато е персонализираната медицина, която едва сега започва да се развива. Дисертационният труд отговаря на всички изисквания на закона и на правилника за прилагането му. Както оригиналният подход, така и получените резултати заслужават най-висока оценка и показват, че докторантката е компетентен изследовател в областта на молекулярната генетика и биология и напълно покриват изискванията за придобиване на научната и образователна степен „ДОКТОР“. По тези причини аз убедено препоръчвам на уважаемото жури да присъди на Павлина Йорданова Челенкова научната степен „ДОКТОР“.

27.12.2017

/Чл. кор. Г. Русев/