

До Ректора на МУ-Пловдив  
Проф. д-р Ангел Учиков, дмн

МЕДИЦИНСКИ УНИВЕРСИТЕТ  
ПЛОВДИВ  
Вх. № Р.1356.1...12.02.2024. г.

## СТАНОВИЩЕ

от проф. д-р Мариана Атанасова Мурджева, дм, мзм,  
ръководител Катедра Микробиология и Имунология при МУ-Пловдив,  
със специалности по „Микробиология” и „Клинична имунология”,  
председател на Научно жури  
по заповед на Ректора на МУ-Пловдив № Р-3787/22.12.2023 г.

във връзка с придобиване на ОНС „Доктор“

от автор:	д-р Диана Колева Моландер
Докторска програма:	Имунология
Професионално направление:	7.1. Медицина
Форма на докторантурата:	редовна
Катедра:	Медицинска Биология при МФ на МУ-Пловдив
Тема:	„3D биопринтиране на колоректален карцином - имунобиологични аспекти“
Научен ръководител:	проф. д-р Виктория Сарафян, дмн
Научен консултант	гл. ас. Йордан Сбирков, дб

### I. ОБЩО ПРЕДСТАВЯНЕ НА ПРОЦЕДУРАТА

Докторската програма е разработена в горепосочената катедра. Дисертационният труд е представен на Катедрен съвет и обсъден на 22.06. 2023 г. На ФС с пр. № 5 от 12.07.2023 г. е насочен за официална защита. Като председател на научното жури съм получила всички необходими документи за процедурата - дисертационен труд, автореферат, биография на докторанта, списък на публикации, цитирания, кредити от докторантско училище и др. Приложените документи съответстват на изискванията на ЗРАСРБ и Правилника за дейността и вътрешния ред на МУ-Пловдив. Спазена е и процедурата за определяне състава на научното жури със заповед на Ректора на МУ-Пловдив.

### II. АКТУАЛНОСТ И ЗНАЧИМОСТ НА ТЕМАТА

Темата на дисертационния труд на д-р Моландер е по направление, в което Катедрата по медицинска биология работи от години и е вече утвърдена. То е въведено от научния ръководител и консултанта. С разработената дисертация докторантката обогатява и надгражда познанията върху значимо и често разпространено онкологично заболяване - колоректален карцином. Неговата ранна диагностика и коректна терапия са от ключово значение за прогнозата и изхода на болестта. Терапевтичните стратегии зависят от създаването на нови лекарства, таргетиращи туморните клетки. През последната декада новите технологии като 3D биопринтирането на тумора позволяват изграждане на оригинален модел, върху който могат да се изследват химиотерапевтици и да се проучват механизмите на лекарствената резистентност при туморните клетки, да се анализират ефектите на иновативни лекарства за персонализирана терапия, вкл. и насоченото ѝ доставяне. Именно върху такъв експериментален модел фокусира научните си дирения д-р Моландер под вещото ръководство на проф. Сарафян и д-р Сбирков. И докато при други тумори има създадени 3D платформи, при колоректалния карцином това е предизвикателство. Изборът на този актуален подход за оценка на имунобиологичните характеристики на 3D модел на биопринтиране на колоректален карцином определя значимостта на темата.

### III. СТРУКТУРА НА ДИСЕРТАЦИОННИЯ ТРУД

Дисертационният труд е оформен по класическия начин за разработване. В структурата му са разделите Въведение, Литературен обзор, Цел и задачи, Материали и методи, Резултати, Обсъждане, Заключение, Изводи, Приноси, Научни публикации, участия в научни форуми и проектна дейност. Литературната справка включва 179 литературни източници на латиница в контекста на разработваната тема. Резултатите са добре онагледени с информативни 40 фигури, вкл. 17 микрофотографии, и 3 таблици. Съдържанието е в 149 страници.

Литературният обзор, написан на разбираем научен език, е подготвен старателно и създава ясно впечатление за актуалност и добра информираност на д-р Моландер. Представени са по достъпен начин характеристиките на колоректалния карцином и сигналните молекули с тяхната антитуморна роля в процеса на туморогенеза. Описани са аналитично микроРНК и маркерите при този тумор, както и значението на микробиома и автофагията. Посочени са съвременните техники за *in vitro* изследване на туморите и приложението на 3D биопринтирането при различни онкозаболявания. Обзорът завършва с аналитична част, която подчертава нерешените проблеми и елегантно води към необходимостта от научното проучване и формулирането на работната хипотеза, че с 3D модела на печат на колоректален карцином ще се охарактеризират имунобиологичните особености на тумора и ще се намери път към дефинитивна персонализирана терапия на всеки пациент. Това логично води и до поставянето на точна цел, за чието изпълнение са оформени 6 конкретни задачи.

Разделът „Материал и методи“ е описателен, а методите са подбрани адекватно - 3D биопринтиране на колоректален карцином от човешките колоректални клетъчни линии CaCo-2 и HCT116 и от клетки от туморна тъкан от 29 пациенти, имунохистохимични и имуноцитохимични техники, изолиране на РНК и секвениране, МТТ анализ за оценка на клетъчна виталност и цитотоксичност, флуоресцентен анализ на клетъчна жизненост, биостатистически и биоинформационни методи. Комплексът от съвременни методи внушава извода, че докторантката е усвоила разнообразни и сериозни молекулно-биологични и имунологични техники за постигане на резултатите. Резултатите са представени убедително и прегледно. Висока оценка заслужава разработеният успешно 3D модел на колоректален карцином от човешка туморна тъкан и от клетъчни линии. Доказва се, че при използването на пациентски проби се сформират клъстери (конгломерати) от клетки с архитектура, подобна на тумора. Изтъкнати са предимствата на биомастилата RGD и GelMa за бързото omрежване и запазване на морфологията. Показани са преимуществата на 3D биопринтовете с първични клетки в сравнение с 2D клетъчните култури - 3D моделите имат насищане за транскрипти, свързани с хипоксия, междуклетъчна адхезия и апоптоза. Изследвана е експресията на различни гени и молекули – KRAS, YKL-40, GP2, LAMP-1 и LAMP-2. Установено е, че клетките в 3D модела на биопринтиране са по-резистентни към химиотерапевтици в сравнение с 2D клетъчните култури и показват предимства при изследване на туморната микросреда, генната експресия и лекарствения отговор. Много добро впечатление прави клинично-лабораторният алгоритъм за 3D биопринтиране на модел на карцином. Обсъждането на получените данни също е направено аналитично и съпоставимо с наличната литература.

Изводите са 8, конкретни и отговарят на задачите и получените резултати.

### IV. ПРИНОСИ

Приемам посочените от д-р Моландър 5 оригинални научно-приложни приноса в дисертацията, на дисертационния труд. Те без съмнение показват, че тя е пионер в апробирането на 3D биопринтов модел на колоректален карцином. Значителен приносен характер има създаването на триизмерна *in vitro* структура, по-сходна с реалната туморна

микросреда в сравнение с прилаганите 2D клетъчни култури, и по този начин може да възпроизведе удачен тъканен модел за по-нататъшни изследвания.

## V. ОЦЕНКА НА ЗАДЪЛЖИТЕЛНИТЕ НАУКОМЕТРИЧНИ ПОКАЗАТЕЛИ, СВЪРЗАНИ С ДИСЕРТАЦИОННИЯ ТРУД

Резултатите от извършените изследвания са публикувани в 3 научни статии в реферирани списания – едната с висок импакт фактор (6.064, Q1), а в две от тях (Q4) д-р Моландър е първи автор. Това недвусмислено представя нейния личен принос в разработване на дисертационния труд и факта, че данните от дисертацията са станали достояние на научната общност. Две публикации са цитирани общо 20 пъти. Резултатите са докладвани на 10 научни форума. Докторантката участва и в 8 научни проекта. Авторефератът е направен според общоприетите изисквания.

## VI. ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Представената докторска дисертация на д-р Диана Моландер е завършен и задълбочен научен труд, подготвян систематизирано и компетентно, със съществен приложен принос в областта на 3D биопринтирането на колоректален карцином, за първи път. При изпълнението на докторската си програма д-р Моландер успешно е овладяла и въвела оригинални методи и техники, придобила е умения за правилно анализиране и интерпретиране на научни факти и има способност за извършване на самостоятелни научни изследвания

Дисертационният труд съдържа научно-приложни резултати, които отговарят на изискванията на Закона за развитие на академичния състав в Република България (ЗРАСРБ) и Правилника за неговото прилагане.

Поради гореизложеното убедено давам положителна оценка за дисертационния труд, автореферат, постигнатите резултати и приноси, и предлагам на почитаемото научно жури да присъди образователната и научна степен „доктор“ на д-р Диана Моландер в докторска програма по Имунология.

9.02. 2024 г.

Изготвил становището:  
Проф. д-р Мариана Мурджева, дм

Заложено на основание  
чл.5 §1, 6-8 "Регламент" (EC/2014/478)