



СТАНОВИЩЕ

от доц. д-р Анелия Биволарска, дб

катедра по Химия и биохимия, Фармацевтичен Факултет, Медицински
университет-Пловдив

Относно: Дисертационен труд за присъждане на образователната и научна степен „доктор” по научна специалност „Биохимия” на д-р Таня Тачева Тачева от Катедра по химия и биохимия при Факултета по медицина на Тракийски университет – Стара Загора, на тема: „ГЕНЕТИЧНИ И КЛЕТЪЧНИ ФАКТОРИ ПРИ ХОББ И БРОНХИАЛНА АСТМА – СПЕЦИАЛНО ВНИМАНИЕ ВЪРХУ РОЛЯТА НА ПРОТЕАЗИ И АНТИПРОТЕАЗИ”.

1. Актуалност на тематиката

БА и ХОББ са комплексни многофакторни заболявания, характеризиращи се с хронично възпаление на белите дробове. Роля в тяхното развитие имат както екзогенни фактори на средата (тютюнопушене, замърсители на въздуха), така и разнообразие от генетични фактори.

В световен мащаб разпространението на ХОББ се оценява на 7.6%, като с нарастване на възрастта, риска за развитие на болестта се повишава. Смята се, че през 2020 г. ХОББ ще бъде на трето място сред заболяванията, водещи до летален изход.

Основно място в патогенезата на ХОББ и БА заемат белодробното възпаление и оксидативния стрес с неговото тежко последствие, което се явява ремоделирането на екстрацелуларния матрикс. Оксидативният стрес играе роля в патогенетичните механизми на двете заболявания, като инактивиране на антипротеази и активиране на MMP, водещо до протеазен/антипротеазен дисбаланс в белия дроб. Поради факта, че патогенезата на ХОББ и БА все още не е изяснена напълно, изследванията върху гени кодиращи различни протеази и антипротеази, могат да дадат по-ясна представа за прогнозата и развитието на заболяванията.

Проведени са множество изследвания, показващи ролята на полиморфизми в гените за MMP и доказващи значението им при развитието и прогресията на ХОББ и БА. Липсват проучвания на популацията в България, определящи риска от развитие на тези белодробни заболявания при носителите на отделните генотипове. Малко на брой и неубедителни са данните към момента за ролята на промоторния полиморфизъм в гена за MMP-3 (MMP3 -1171 ins A) в патогенезата на ХОББ и на MMP7 -181 A>G при развитието на ХОББ и БА. Още по-ограничен е броят на изследванията при Бронхиална астма.

Тези факти подчертават актуалността на разглеждания проблем в настоящия дисертационен труд.

2. Описание на дисертацията

Представеният ми за рецензиране дисертационен труд е написан на 142 страници, илюстриран е с 43 фигури и 30 таблици. В дисертацията са цитирани голям брой литературни източници, общо 377, от които 1 на кирилица. Прави добро впечатление актуалността на литературните източници, около 25% от тях са публикувани през последните 5 години (от 2012).

3. Познаване на проблема

Дисертационният труд включва обширен и информативен литературен обзор. Той е представен в три основни раздели: „Хронична обструктивна белодробна болест (ХОББ)”, „Бронхиална астма”, „Протеинази и антипротеинази при ХОББ и БА”. В

литературният обзор задълбочено са представени етиологията, рисковите фактори, диагнозата, патофизиологията, патогенезата, клиничните признаци и морфологичните промени при двата заболявания. Анализирани са подробно ролята на някои фактори при развитието на ХОББ и БА, включващи оксидативен стрес, протеазен/антипротеазен дисбаланс, участие на растажни фактори и цитокини, стареене. В отделна част изчерпателно са представени литературни данни за значението на α 1-Антитрипсин, Неутрофилна серинова протеиназа, семейството на Дезинтегрин и металопротеинази (ADAM), Матриксни металопротеинази. Литературният обзор е много добре структуриран и систематизиран и показва богатата информираност на докторантката по проблематиката, както и способността ѝ да вниква в същността на проблемите, критично да ги анализира и умело да ги обобщава. Илюстриран е с 4 фигури и 1 таблица, които много успешно подпомагат възприемането на информацията в текста. На основата на богатия литературен обзор и на направеното в края му обобщение са изведени ясно и конкретно целта и задачите на дисертационната работа.

4. Методика на изследването

Разделът "Материали и методи" на дисертацията обхваща 11 стр. и е развит подробно и задълбочено. Добро впечатление прави, че в проведените изследвания са включени голям брой индивиди – 204 пациента с ХОББ, 89 пациента с Бронхиална астма и 412 незасегнати от заболяванията индивиди. Избраната методика на изследване включва съвременни молекулярно-биологични методи, което гарантира качеството на получените резултати и позволява постигането на поставената цел и получаването на адекватен отговор на задачите и проблемите, решавани в дисертационния труд. Статистическите анализи са осъществени с пакет от статистически програми SPSS (Statistical Package for the Social Sciences) версия 16 (IBM Corporation, Armonk, New York, USA). Оценявам високо разнообразието и пълната адекватност на прилаганите статистически методи, които са съобразени с типа на разпределение на количествените показатели. Диагностичната точност на даден биомаркер е определен с помощта на анализа на ROC кривите (Receiver Operating Characteristic curve).

5. Резултати и обсъждане

Логично, тази част е най-обширната от дисертационния труд като представените резултати на проведеното за първи път в България популационно изследване са много и богато илюстрирани. Изследвана е ролята на генетични полиморфизми в гените, кодиращи някои MMP, както и полиморфизми в гените за теломераза в развитието и прогресията на ХОББ и Бронхиална астма. Направено е генотипиране по отношение на MMP1 -1607 insG, MMP3 -1171 insA, MMP12 - 82 A>G еднонуклеотидните полиморфизми на пациенти с ХОББ и БА; на MMP2 -1306 C>T и MMP7 -181 A>G, еднонуклеотидните полиморфизми на пациенти с ХОББ и на популация от незасегнати от заболяването индивиди и е определена ролята на тези полиморфизми като рисков фактор за ХОББ и БА. Генотипните разпределения на българската контролна група от индивиди от регион Стара Загора по отношение на полиморфизмите в MMP3, MMP7 и TERC C>G (*rs12696304*) кореспондират с резултатите за други популации от Кавказки тип. Измерени са концентрациите на MMP-1, MMP-2, MMP-3, MMP-7 и на един от специфичните ендогенни инхибитори на MMP (TIMP2) в кръв от пациенти с ХОББ и на популация от незасегнати от заболяването индивиди и е определена ролята на концентрацията на тези ензими за развитието и прогресията на ХОББ, както и концентрацията на MMP-3 в кръв от деца и възрастни индивиди с БА и на популация от незасегнати от заболяването индивиди. Извършено е генотипиране по TERC C>G (*rs12696304*) и TERC C>T (*rs10936599*) SNPs и е измерена дължината на теломерите на пациенти с ХОББ и на популация от незасегнати от заболяването индивиди и е определена ролята им в развитието на

ХОББ. Доказана е протективната роля на 5A алела на MMP3 (-1171insA, 5A>6A) промоторния полиморфизъм за развитието на БА, но не и за развитието на ХОББ. Установено е, че носителството на поне един вариантен T алел (CT+TT) на MMP2 -1306C>T полиморфизма, се явява рисков фактор за развитието на ХОББ. MMP7 -181A>G промоторния полиморфизъм се асоциира с риска от развитие на ХОББ, като генотиповете съдържащи вариантния G алел (AG+GG), могат да се смятат за предразполагащи за развитието на заболяването. Установен е протективния ефект за развитието на ХОББ на генотиповете съдържащи вариантния G алел (CG+GG) на полиморфизма TERC C>G (rs12696304). Потвърдителни са резултатите, показващи, че промоторният полиморфизъм -1607insG (1G>G) в MMP1 не повлиява развитието на ХОББ и БА, MMP3 (-1171insA, 5A>6A) полиморфизмът не повлиява развитието на ХОББ, вариантният G алел на MMP12 -82 A>G полиморфизма играе протективна роля за развитието на ХОББ и БА.

6. Оценка на изводите и приносите

Направените в края на дисертационния труд 9 извода са в пълно съответствие с получените резултати. Те са конкретни, точни и много добре формулирани. На базата на всичко представено в разработената дисертация са формулирани добре систематизирани три групи приноси: оригинални научни приноси, научни приноси с потвърдителен характер и научно-приложни приноси.

7. Преценка на публикационната активност

Резултатите от дисертацията са публикувани в 4 публикации, в които д-р Таня Тачева е първи автор. Две от тях сав списания с ИФ (Biotechnology&BiotechnologyEquipments, IF= 0.622, 2014) и Balkan Journal of Medical Genetics (под печат) (IF=0.66, 2016). 2 статии са публикувани в български списания като едното е реферирано в международна база данни (Trakia Journal of Science). Научните резултати от дисертационната работа са направени достояние до широк кръг специалисти от национален и световен мащаб - 4 научни форуми в страната и 9 в чужбина.

8. Автореферат

Съдържанието и качеството на предложения автореферат отговаря на съдържанието на дисертационния труд, спазва изискванията и отразява основните резултати, постигнати в дисертацията.

9. Заключение

В заключение, дисертационният труд „Генетични и клетъчни фактори при ХОББ и Бронхиална астма – специално внимание върху ролята на протеази и антипротеази” **има оригинален характер с ценни оригинални и научно-приложни приноси и изцяло отговаря** на изискванията на Закона за РАСРБ и Правилника за неговото приложение. Дисертационният труд показва, че докторантката д-р Таня Тачева притежава задълбочени теоретични знания и професионални умения по научна специалност Биохимия като демонстрира качества и умения за самостоятелно провеждане на научно изследване.

Въз основа на направения анализ на дисертационния труд давам своята **положителна оценка** и предлагам на почитаемото научно жури да присъди образователната и научна степен „**доктор**” на д-р Таня Тачева Тачева област на висше образование **4. „Природни науки, математика и информатика”** **Професионално направление 4.3. „Биологически науки”** **Научна специалност „Биохимия”**.

10.10.2017 г.

Изготвил становището:.....

(доц. д-р Анелия Биволарска, дб)