



## РЕЦЕНЗИЯ

от Акад. проф. Иван Георгиев Иванов, дбн

на дисертационния труд на **Таня Тачева Тачева** на тема „*Генетични и клетъчни фактори при ХОББ и бронхиална астма – специално внимание върху ролята на протеази и антипротеази*“, представен 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. Обща част

Дисертационният труд на д-р Таня Тачева Тачева, редовен докторант към Катедра „Медицинска химия и биохимия“ на Медицинския факултет при Тракийския университет, Стара Загора на тема: „*Генетични и клетъчни фактори при ХОББ и бронхиална астма – специално внимание върху ролята на протеази и антипротеази*“, представен 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“, докторантска програма „Биохимия“ е изработен под научното ръководство на проф. д-р Татяна Влайкова от същата катедра. Дисертационният труд обхваща 143 страници и съдържа, 43 фигури, 30 таблици и 377 литературни източници.

### 2. Кратки биографични данни за докторанта

Д-р Таня Тачева Тачева е родена на 05.10.1985 г. Тя е възпитаник на Ветеринарномедицински факултет при Тракийски университет гр. Стара Загора, откъдето през 2009 г. придобива квалификация „Ветеринарен лекар“. До 2012 г. работи като ветеринарен лекар във ветеринарната клиника „Вита Вери“ гр. Стара Загора, след което е зачислена като редовен докторант към катедра „Химия и биохимия“ в Медицинския факултет на ТУ – Ст. Загора. По време на своето обучение тя е положила необходимите изпити и е посещавала редица езикови и квалификационни курсове свързани с докторантската програма. През периода на докторантурата тя е водила практически упражнения, семинарни занятия и колоквиуми по „Биохимия“ и „Патобиохимия“ на български и английски език.

Д-р Тачева е автор на 25 научни статии, от които 7 в реферирани списания с ИФ. Тя е участвала и в разработването на 12 научни проекти, от които 10 са с ведомствено финансиране (НИП при ТУ-Ст. Загора) и 2 - по програма COST.

### 3. Актуалност на разработваната тема

Дисертационният труд на Таня Тачева е посветен на изследването на генния полиморфизъм на ключови клетъчни протеази и техни полипептидни инхибитори (антипротеази) във връзка с изясняване на етиологията на две социално значими болести – ХОББ и бронхиална астма (БА). От тях ХОББ засяга около 7.6%, а БА - 3% от населението на земята или общо над 800 милиона души. Етиологията и на двете заболявания включва както фактори на околната среда, така и генетична предиспозиция, от които първите са по-добре изследвани, но знанията ни за вторите са оскъдни. Имайки предвид този факт, както и голямата социална значимост на двете респираторни заболявания, то актуалността на дисертационната тема не буди никакво съмнение.

### 4. Познаване на проблема

Литературният обзор обхваща 40 страници и се позовава на повече от 300 литературни източници. Той се състои от два основни подраздела, посветени съответно на описанието на ХОББ и БА и на ролята на клетъчните протеинази и антипротеинази за тяхната етиология.



За всяка от двете болести е представена съответната клиничната картина, диагностицирането, рисковите фактори и патофизиологията, където пък е изтъкната ролята на основните фактори в патогенезата на ХОББ и БА, като оксидативен стрес, дисбаланс между активността на протеазите и антипротеазите, цитокини, растежни фактори, стареене, тютюнопушене и др.

Специално внимание в литературния обзор е отделено на ролята на клетъчните протеинази и антипротеинази, като акцентът пада върху неутрофилните серинови протеинази ADAM и матриксните (Zn-зависими) металопропротеинази, които при човека са 23. От антипротеиназите е разгледан основно  $\alpha 1$ -антитрипсина.

Като израз на професионална зрялост приемам изводите направени в края на литературния обзор въз основа на задълбоченото литературното проучване. Изтъкнато е, че високият полиморфизъм, отнасящ се главно до промоторните области на гените кодиращи MMP и TIMP, може да доведе до различни патологични състояния, включително ХОББ и БА. Отбелязано е, че докато полиморфизмите в гените на MMP-2 и MMP-12 са сравнително добре проучени, то тези на MMP-3 и по-конкретно асоциацията на инсерирания аденин в позиция 1171, както и на полиморфизма MMP7 -181 A>G с ХОББ и БА са слабо изследвани. Що се отнася до генотипирането на българската популация, докторантката открива само един доклад от 2011 г. Оскъдни са и изследванията върху полиморфизмите в гена на теломеразата (TERC), които биха повлияли върху скоростта на скъсяването на теломерите и връзката им с ХОББ.

Задълбоченият и критичен анализ на литературата е позволил на докторантката да определи своята изследователска ниша и да формулира точно целите и задачите на своята дисертация.

#### **5. Целесъобразност на поставените цели и задачи**

Целта на дисертацията е формулирана лаконично: „*Изясняване ролята на генетични полиморфизми в гените, кодиращи някои MMP, както и полиморфизми в гените за теломеразата за развитието и прогресията на ХОББ и БА*”. Адекватни на целта са и поставените конкретни задачи, а именно, да се проучи връзката на полиморфизмите MMP1 -1607 insG, MMP3 -1171 insA, MMP12 - 82 A>G, MMP2 -1306 C>T и MMP7 -181 A>G, с ХОББ и БА, както и на TERC C>G и TERC C>T SNPs и дължината на теломерите с ХОББ; да се потърси корелация между кръвните нива на MMP-1, MMP-2, MMP-3, MMP-7 и TIMP-2 и ХОББ, а също на MMP-3 при деца и възрастни с БА.

#### **6. Адекватност на методиката на изследване**

Методичният раздел обхваща 10 страници и включва разнообразни биохимични, молекулярно-биологични и имунологични методи, като: изолиране и охарактеризиране на ДНК, гел-електрофореза на ДНК и протеини, амплификация на ДНК чрез PCR, полиморфен анализ на набелязаните гени, количествена ELISA за определяне концентрацията на матриксните металопропротеази, статистическа обработка на експерименталните данни и др. Методите са съвременни и адекватни на планираните изследвания.

#### **7. Оценка на получените резултати**

Резултатите от проведените изследвания са представени на около 40 страници (раздел „Резултати“) и са дискутирани на 20 страници в раздел „Обсъждане“.

В изследването са включени 204 пациенти с различен стадий на ХОББ, 89 пациента с БА (от тях 26 деца и 63 възрастни) и 412 здрави индивиди. Индивидите от пациентските групи и контролите са допълнително разделени на подгрупи по възраст, пол, стадий на болестта и тютюнопушене, което разширява възможностите за търсене на зависимости на ХОББ и БА от повече от един фактор.



Както вече беше отбелязано, докторантката насочва вниманието си главно към полиморфизмите в промоторните области на матриксните металопроотеинази и по-конкретно към полиморфизмите *MMP1*-1607insG (rs1799750), *MMP2*-1306 C>T(rs243865), *MMP3* -1171insA (rs3025058), *MMP7*-181A>G (rs11568818), *MMP12*-82 A>G (rs2276109), *TERC* C>G (rs12696304) и *TERC* C>T (rs10936599). Обект на изследване са основно пациенти и здрави индивиди от старозагорския регион. Нейните резултати показват, че наблюдаваните полиморфни честоти не се различават съществено от тези намерени за други индоевропейски популации. Тачева не намира корелация между полиморфизма *MMP1*-1607insG (1G>G), както и между серумните нива на MMP-1 и появата на ХОББ и БА. За сметка на това, носителството на Т генотиповете (СТ и ТТ) при полиморфизма *MMP2* -1306C>Т водят до 1.64 пъти по-висок риск от развитие на ХОББ при напредналата възраст. При изследването на полиморфизма *MMP3*-1171insA (5A>6A) не е намерена асоциация с развитието на ХОББ, но е установен протектиращ ефект за развитието на БА. Регистрирана е и асоциация на 6A/6A генотипа за същия алел с повишените серумни нива на MMP-3 протеазата.

Интерес представляват изследванията върху промоторния полиморфизъм на MMP-7 гена, където е намерена асоциация на *MMP7*-181A>G полиморфизма с ХОББ. Докторантката смята, че G съдържащите генотипове (AG+GG), които са свързани с повишени кръвни нива на MMP-7, са предразполагащи към развитието на ХОББ. Обратен е случаят с вариантите на MMP12, където G-съдържащите генотипове при промоторния полиморфизъм *MMP12*-82 A>G имат протективен ефект. Те понижават риска от развитие на ХОББ два пъти, а на БА - 4.2 пъти. Протективен ефект имат и G-вариантите на *TERC* C>G полиморфизма (rs12696304), както и Т-алелите на полиморфизма *TERC* C>T (rs10936599). Интересно е, че тези полиморфизми не повлияват дължината на теломерите в левкоцити от кръв на пациенти с ХОББ.

Резултатите от проведените изследвания са богато илюстрирани с фигури и таблици и са интерпретирани задълбочено в светлината на многобройните литературни данни (раздел „Обсъждане“). Въз основа на направения анализ са формулирани 9 извода и 9 приноса, които са адекватни на получените резултати.

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

Докторантката основателно разделя приносите на своя дисертационен труд на *научни и приложни*. От своя страна аз бих ги подразделил на *фундаментални и потвърдителни*.

Към оригиналните приноси с фундаментален характер се отнасят резултатите от генотипирането на представители на българската популация по отношение на промоторните полиморфизми *MMP1* -1607insG, *MMP2* - 1306 C>T, *MMP3* -1171insA, *MMP7*-181A>G, *MMP12*-82A>G, *TERCC*>G и *TERC* C>T1, както и доказването на протективния ефект на 5A алела на *MMP3* (-1171insA, 5A>6A) за развитието на БА, но не и на ХОББ. Оригинален принос е и разкриването на протективен ефект за развитието на ХОББ на G-съдържащите алели (CG и GG) при *TERC* C>G (rs12696304) полиморфизма, а също на рисковия характер за развитието на ХОББ в напреднала възраст на носителството на Т съдържащите алели (СТ и ТТ) при полиморфизма *MMP2*-1306C>Т и на G-съдържащите алели при *MMP7*-181A>G.

Потвърдителен характер има резултатът показващ, че промоторният полиморфизъм *MMP1*-1607insG (1G>G) не повлиява развитието на ХОББ и БА, както и този, че 6A/6A генотипа на *MMP3*-1171insA е асоцииран с по-високи серумни нива на ензима MMP3.

## 8. Публикации

Резултатите от изследванията свързани с дисертацията на Т. Тачева са отразени в 4 научни статии, от които една е под печат. 2 от статите са в списания с ИФ (общ ИФ 1.282). Резултатите са представени и на 4 национални научни форуми. Във всички публикации и резюмета на научни доклади докторантката е първи автор.

#### **9. Автореферат**

Запознат съм с проекта за автореферат и намирам, че той отразява адекватно съдържанието и приносите на дисертацията.

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

Дисертационният труд е написан с вещина на точен и ясен научен език и с минимална употреба на чуждици. Към проекта за дисертация имах някои забележки и препоръки, които поставих по време на апробацията. Сега със задоволство установявам, че те са взети под внимание при оформянето на дисертационния труд в неговия краен вариант.

#### **ЗАКЛЮЧЕНИЕ**

Дисертационният труд на д-р Таня Тачева е пример за научна разработка с подчертан научно-приложен характер в областта на медицинската молекулярната генетика и биохимия. При неговото разработване са използвани знания и умения от различни сфери на фундаменталните природни науки, като имунология, клетъчна биология, молекулярна биология, биохимия и др., а като инструментариум е използвана най-модерна съвременна лабораторна техника. Изследванията са довели до значими научни резултати отразени в 4 статии, от които 2 в списания с ИФ. Резултатите са представени и на 4 научни форума. Със своите научни постижения и умения д-р Т. Тачева се представя като зрял изследовател, който удовлетворява напълно изискванията на Закона за развитие на академичния състав в Република България, Правилника за неговото прилагане и вътрешните правилници на ТУ-Стара Загора за придобиване на образователната и научна степен „Доктор”. Това ми дава основание убедено да препоръчам на Научното жури определено да проведе защитата *да ѝ я присъди*.

10.10.2017 г.

Рецензент:



/Акад. Иван Г. Иванов/