



СТАНОВИЩЕ

от доц. Йоана Димитрова Киселова-Кънева, дб,
Катедра по Биохимия, молекулна медицина и нутригеномика,
Медицински университет-Варна

тел: (052) 677050/вътр. 2886, e-mail: ykisselova@abv.bg

Член на Научно жури, определено със Заповед No 2211/28.09.2017г. на Ректора на Тракийски Университет – Стара Загора.

Относно дисертационен труд на тема: „**Генетични и клетъчни фактори при ХОББ и бронхиална астма – специално внимание върху ролята на протеази и антипротеази**”, за придобиване 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**”, на д-р Таня Тачева Тачева, Катедра „Химия и биохимия“ при Медицински факултет на Тракийски университет – Стара Загора.

1. Актуалност на темата на дисертационния труд

В дисертационния си труд Таня Тачева разглежда две обществено значими заболявания – ХОББ и БА. Бронхиалната астма засяга около 300 милиона души, а ХОББ е сред хроничните заболявания водещи до най-висок процент смъртност в световен мащаб.

Етиологията на двете заболявания е сложна и в основата стоят редица причинители с екзогенен и ендогенен характер. Изяснена е ролята на някои от факторите в патогенезата на ХОББ и БА, като оксидативен стрес, цитокини, растежни фактори, стареене на клетките и дисбаланса между протеази и антипротеази. От последните, неутрофилната еластаза е протеазен ензим, с доказано влияние в патологичните процеси, водещи до появата на разглежданите заболявания.

Матриксните металопроотеинази (ММР) разграждат различни компоненти на ЕЦМ, участват при адхезията и сигнализирането клетка-клетка и клетка-матрикс, активират чрез протеолиза други ММРs, участват в процесите на възпаление. Гените, кодиращи ММР, са полиморфни, като са описани редица полиморфизми в промоторните региони за матриксните металопроотеинази. Ролята на някои от тези полиморфизми в развитието на ХОББ и БА е все още спорна или ненапълно изяснена. Липсват проучвания на популацията в България, определящи риска от развитие на тези заболявания. Открито е само едно проучване относно ролята на *MMP3* (-1171insA, 5A>6A, rs3025058) полиморфизма при бронхиална астма сред българското население.

Броя на остаряващите белодробни съдови ендотелни клетки е по-висок при пациенти с ХОББ, от тези при контролни индивиди. Смята се, че причина е понижената теломеразна активност и скъсяване на теломерите. Проучванията, свързани с дължината на теломерите или полиморфизми в гените кодиращи теломеразата при ХОББ, са малко на брой и все още предстои да бъде изяснена ролята им в развитието и прогресията на това заболяване.

Предвид гореизложеното считам, че темата на дисертационния труд е актуална и значима. Допринася за получаване на нови данни относно приноса на някои генетични (полиморфизми в гени за матриксни металопроотеинази и техни инхибитори и теломераза), клетъчни (активност на теломеразата) и молекулни (концентрация на ММР

в кръвна плазма) фактори за изявата на изследваните заболявания с голяма социална значимост –ХОББ и БА.

2. Структура на дисертационния труд

Дисертационния труд е представен на 142 страници, съдържа 43 фигури и 30 таблици. Библиографията включва 377 литературни източници.

3. Познаване на проблема

В дисертационният си труд докторантката е представила за всяко от двете заболявания (ХОББ и БА) съответната клинична картина, методите на диагностизиране и патогенезата. Разделите патогенеза са най-обширни, като разглеждат ролята на оксидативния стрес, разстежни фактори, цитокини, стареенето и дисбаланса между протеази и антипротеази.

Акцент в литературния обзор е сложен върху ролята на протеазите и техните инхибитори в патогенезата на ХОББ и БА. В подробности е представена структурата и класификацията на матриксните металопроотеинази, както и специфичните за тях инхибитори –тъканните инхибитори на матриксните металопроотеинази (TIMP).

Представени са литературни данни за проучвания, в които се търси връзка между някои полиморфизми в гените кодиращи MMP (*MMP1* -1607 insG, *MMP2* -1306 C>T, *MMP3* -1171 insA, *MMP7* -181 A>G, *MMP12* - 82 A>G) за изявата на ХОББ и БА и др. заболявания.

Литературния обзор е изложен на 39 страници и е онагледен с 4 фигури и 1 таблица. На база проведения литературен обзор са формулирани точно и конкретно изводи, цел и задачи на дисертационния труд.

4. Материали и методи

В проведените изследвания са включени 204 пациенти с ХОББ, 89 пациенти с Бронхиална астма (от тях 26 деца, под 18 г. и 63 възрастни) и 412 незасегнати от заболяванията индивиди. Използваните методики позволяват постигането на определената цел и решаването на свързаните с нея задачи. Приложен е богат набор от съвременни молекулярно-биологични и имунологични методи: PCR-RFLP, количествен Real-time PRC, SYBR green-базиран qPCR и ELISA. Обработката на получените резултати е осъществена посредством пакет за статистически анализи SPSS (Statistical Package for the Social Sciences) версия 16 (IBM Corporation, Armonk, New York, USA).

5. Резултати и обсъждане

Резултатите от проведените изследвания са представени на 38 страници, а разделът обсъждане обхваща 20 страници. Разделите са онагледени с голям брой таблици и фигури, допринасящи за лесното възприемане на представените данни.

Обект на изследването са полиморфизми в гените кодиращи някои MMP, както и теломеразата TERC. По отношение на *MMP1* -1607 insG, *MMP3* -1171 insA, *MMP12* - 82 A>G еднонуклеотидните полиморфизми са генотипирани пациенти с ХОББ, БА, както и популация от незасегнати от заболяването индивиди, а по отношение на *MMP2* -1306 C>T и *MMP7* -181 A>G, еднонуклеотидните полиморфизми - пациенти с ХОББ и популация от незасегнати от заболяването индивиди.

Измерена е дължината на теломерите и са генотипирани по *TERC* C>G и *TERC* C>T SNPs пациенти с ХОББ и контролни индивиди.

Наред с това е измерена концентрацията на MMP-1, MMP-2, MMP-3, MMP-7 и TIMP-2 в кръв от пациенти с ХОББ, и на MMP-3 в кръв от деца и възрастни индивиди с БА, както и на популация от незасегнати от заболяването индивиди.

В резултат на проведените изследвания е установено, че промоторният полиморфизъм -1607insG (1G>G) в *MMP1* не повлиява развитието на БА и ХОББ. Носителството на Т-съдържащи генотипове (СТ+ТТ) на *MMP2* -1306С>Т полиморфизма, може да е свързано с по-висок риск от развитие на ХОББ, особено в напреднала възраст. При пациенти с ХОББ плазмената концентрация на TIMP-2 е пониска, а съотношението MMP-2/TIMP-2 по-високо в сравнение с контролните индивиди. Дисертантката констатира, че високопродуциращият 5А алел на промоторния полиморфизъм -1171insA (5А>6А) в *MMP3* се явява протектиращ при развитието на БА, но не се асоциира с развитието на ХОББ, а серумни нива на MMP-3 могат да бъдат използвани като показател за ХОББ и БА при възрастни, но не при деца с БА. Носителството на генотипове съдържащи вариантния G алел на *MMP7* -181A>G полиморфизма се асоциира с риска от развитие на ХОББ. Наблюдавана е тенденция за по-високи серумни нива на MMP-7 при пациенти с ХОББ. Вариантният G алел, както и G-съдържащите генотипове на *MMP12* -82 A>G промоторния полиморфизъм определят по-малък риск от развитие на ХОББ и БА. Докторантката наблюдава по-къси теломери в левкоцити от цяла кръв при пациенти с ХОББ, макар и без статистическа значимост, като полиморфизмите в TERC не повлияват дължината на теломерите.

6. Изводи и приноси

На основа на докладваните резултати, Таня Тачева е направила 9 извода, които са правилно формулирани и конкретни. Приемам и оценявам изведените от Тачева приноси. Намирам за удачно тяхното разделяне на научно-теоретични и научно-приложни от една страна, и на оригинални и такива с потвърдителен характер, от друга.

7. Публикации и участия във връзка с дисертационния труд

Резултатите от проведените във връзка с дисертационния труд изследвания са докладвани в 4 научни публикации, 2 от които в списания с ИФ. Докторантката е водещ автор във всички публикации.

Резултатите са представени на 13 научни форуми, като 4 от тях са в страната, а 9 – в чужбина.

8. Заключение

Дисертационният труд на д-р Таня Тачева представлява оригинален и актуален научен труд, за осъществяваето на който са използвани редица съвременни молекулярно-биологични методики. Дисертационният труд е едно напълно завършено, задълбочено авторско изследване с обосновани научни приноси и отговаря на изискванията на Закона за РАСРБ и Правилника за неговото приложение.

Поради гореизложеното давам своята положителна оценка и предлагам на почитаемото научно жури да присъди образователната и научна степен „доктор“ на Таня Тачева Тачева.

17.10.2017 г.

Изготвил становището:

(доц. Йоана Киселова-Кънева, дб)