

СТАНОВИЩЕ

Върху дисертационен труд на тема: „Генетични характеристики и прогностични маркери при белодробен карцином” /оригинално заглавие: “**Genetic Characteristics and Prognostic Markers of Lung Cancer**”/ за присъждане на образователната и научна степен “Доктор”, професионално направление „Биологични науки”, научна специалност „Генетика”, шифър 01.06.06.

Автор на дисертационния труд: Мухаммад Жабер Мухауиш

Научни ръководители: проф. Севдалин Георгиев, дбн и проф. Дража Тончева, дбн

Член на научното жури: проф. д-р Спаска Димитрова Петкова

В световен мащаб ракът на белия дроб е водеща причина за смъртност в резултат на злокачествени заболявания при двата пола – мъже и жени. Налице е непрекъснатата тенденция за увеличаване на общия брой пациенти с малигнени заболявания, което ги превръща в изключително важен проблем за здравеопазването.

Сред водещите в Европа ракови заболявания – колоректален рак и рак на млечната жлеза, РБД заема трето място, следван от рак на простатата. РБД обаче е най-честата причина за смъртност сред злокачествените новообразования /около 19,9% от общия брой смъртни случаи годишно/.

Катедрата по медицинска генетика към Медицински университет, София има вече установени традиции в изследване на генетичните аспекти на недребноклетъчния белодробен карцином /НДКБК/. Защитени са две дисертации по оценка на експресията на hTRETm РНК и EGFRm РНК като биологични маркери за ранна детекция и втората по експресионен анализ на гените, асоциирани с 4 сигнални пътища при НДКБК – гени свързани с ангиогенезата, апоптозата, метастазирането и с регулацията на цитоскелета.

Независимо от това, познанията относно генетичните и епигенетичните промени, свързани с патогенезата и развитието на белодробния карцином са все още недостатъчни. Болшинството от случаите /около 70% / се диагностицират, когато заболяването е засегнало лимфните възли или пък са налице далечни метастази.

Това налага още по-осезателно необходимостта от идентификация на кандидат диагностични маркери с висока специфичност и сензитивност и намирането на молекулни таргети за прицелна терапия на такива агресивно протичащи заболявания, какъвто е белодробния карцином.

Представеният ми за становище дисертационен труд на Мухаммад Жабер Мухауиш е просветен на проучването на молекулно генетичните характеристики на НДКБК с използването на най-нови геномни микрочипови технологии, основаващи се на сравнително геномната хибридизация /CGH микрочипове/, на анализа на единичните нуклеотидни замени /SNPs микрочипове/ и ДНК метилационни микрочипове със съответните им софтуерни програми. Този

комплексен подход определя изключителната актуалност и целенасоченост на проведените изследвания.

В композиционно отношение дисертационния труд е изграден в съответствие с възприетата европейска структура на дисертационните трудове – първата глава представлява литературен обзор /54 стр./, а останалите три глави /50, 54 и 30стр./ с подраздели: материал и методи, резултати, дискусия и заключения по същество са резултати от собствените проучвания по проблема.

Дисертационният труд е написан на английски език с общ обем от 204 стр., онагледен с 38 таблици и 51 фигури. Използвани са 197 литературни източници, преобладаващата част от които са от последните 5 – 10 години.

В литературния обзор авторът основателно акцентира върху хистологичната класификация и определяне стаиите на развитие на белодробния карцином; различните диагностични подходи; генетичните аспекти на канцерогенезата; ролята на хромозомните аберации за развитие на белодробния карцином; хипотезата за молекулната патогенеза на заболяването. Специално е разгледана ролята на загубата на хетерозиготност за злокачествената трансформация на клетките и значението на ДНК митилирането при развитието на белодробен рак. Направен е преглед на нови кандидат гени до настоящия период, асоциирани с това заболяване и са представени възможностите за приложение в клиничната практика на геномните микрочипови технологии - CGH микрочипове и SNP анализ /SNP с микрочипове/. Литературният обзор като цяло разкрива солидна професионална култура и още по-релефно очертава актуалността и целенасочеността на дисертационния труд. Неговото богатство и компетентната интерпретация на получените до настоящия момент експериментални данни са позволили на автора ясно да дефинира целта на дисертационния труд и задачите за постигане на тази цел, включващи изследвани с CGH, SNPs и митилационни микрочипове, анализ на молекулните профили, определяне на специфичните нарушения и последващо финно картиране на най-значимите от тях.

За изпълнение на експерименталната програма са използвани 32 туморни проби от пациенти с НДКБК от тъканната банка на Катедрата по медицинска генетика, постоперативно стадирани съгласно критериите на UICC. Коректно са представени молекулярно генетичните техники за екстракция и качествена оценка на ДНК; молекулярен профил на туморите с трите микрочипови платформи.

В резултат на експерименталната работа са получени интересни резултати с потвърдителен и оригинален характер.

Проведените с CGH микрочипове изследвания на 10 туморни проби от пациенти с НДКБК показват повишен брой копия на тумор /гейн и амплификация/ със средна честота 4,3 / тумор и загуба на генетичен материал – 5,8 / тумор. В по-ранен стадии на развитие на туморите преобладават големите по размер /по-големи от 5 Mb/ регионални аберации, докато при тези в напреднал стадии - микроструктурните аберации. Аберации от типа гейн и амплификация са установени в хромозоми 7p и 12p, и генетични загуби в 3p26 и 4q34. Бройните аберации засягат цели хромозоми: тризомия 1, тризомия13, тризомия18 и тризомия 20. Не са наблюдавани монозоми.

В районите с висока честота на генетични допълнения са излъчени кандидат онкогени – NBPF4, ETV1, AGR3, TSPAN13, SOX5, FGFR10P2, GPC6 и потенциални туморсупресорни гени – DPYD, CLDN22, CLDN24, ING2, CASP3, SDRBS2 и DEFB в районите с генетични загуби съответно.

В резултат на проведения анализ на 8 туморни проби с SNP микрочипове, покриващ целостния геном за небалансирани генетични нарушения са установени най-различни типове, засягащи всички хромозоми и водещи до инактивиране на гени за клетъчна пролиферация и хомеостаза и SNPs, отнасящи се до пациенти T2, T3, T6, T7 и T8 /общо 5 бр./ Тези резултати имат оригинален характер, поради факта, че това е първото проведено в България изследване на туморни проби с тази платформа, позволяваща анализирането на нови хромозомни находки – мозаицизъм и загуба на хетерозиготност.

Оригинални са и резултатите от използване на метилационни микрочипове за изследване на белодборни карциноми. При 14 проби 5 гена са показали диференцирано метилиране при пациенти в сравнение с контролите /ZNF569, MAOA, LASIL, SIMI, DHP/. При пациенти в напреднал стадий на развитие на рак е открито специфично метилиране. Регистрирани са 27 хиперметиранни гена и само един хипометиран. Хиперметирането в 10 от случаите е характерно за промоторните секвенции и 14 са в структурата на гените.

По дисертационния труд са представени 3 публикации в списания с IF и едно участие в международен конгрес. Авторефератът отразява основните раздели и резултати от дисертационния труд. Изводите логично произтичат от получените експериментални резултати. Дисертационният труд респектира със стилното си оформление и онагледяване.

Приемам посочените приноси с научен характер.

Към дисертационния труд могат да бъдат отправени някои критични бележки. Част от тях са от технически характер – допуснати правописни грешки и необходимост от прецизиране на текста в стилово отношение на отделни места. В терминологично отношение: при дефиниране на задача №3 е написано: „loss of heterozygotes” вместо “loss of heterozygosity – LOH”. Посоченото не намалява достойнството на дисертационния труд.

Заклучение:

Дисертационният труд е едно сериозно изследване в областта на молекулярното охарактеризиране на недребноклетъчния белодробен карцином. Комплексният подход за изследване с използването на 3 микрочипови платформи, базирани на SGH, SNPs и метилиране е довел до установяването на нови за това агресивно заболяване кандидат онкогени и тумор супресорни гени. Проведеният за първи път SNP анализ на туморни проби от пациенти с НДКБК в България има оригинален характер и е резултирал в откриването на редки находки – наличие на мозаицизъм и загуба на хетерозиготност. Получените експериментални резултати откриват перспективи за бъдещо валидиране на откритите от автора нови кандидат гени, асоциирани с НДКБК.

На основание на горепосоченото препоръчвам на членовете на Уважаемото научно жури да присъди на Мухаммад Жабер Мухауиш образователната и научна степен „Доктор” по научна специалност „Генетика”.

Рецензент:

4.07.2013 г.

Проф.д-р Спаска Петкова