

## СТАНОВИЩЕ

върху дисертационен труд за придобиване на образователната и научна степен “доктор”, професионално направление 4.3 “Биологически науки” по научна специалност “Генетика”

Автор на дисертационния труд: Георги Георгиев Антоф, докторант в  
Института по физиология на растенията и генетика при БАН

Тема на дисертационния труд: „Мутационен скрининг на гените *BRCA1*, *BRCA2* и *STK11* при пациенти от българска популация с рак на млечната жлеза“  
от проф. д-р Стоян Ганчев Лалчев, дм, Катедра по медицински генетика, МУ –София

Разработеният дисертационен труд е по определено актуална тематика, като се има предвид социалната значимост на заболяването - рак на млечната жлеза (РМЖ) и липсата на данни за нашата популация относно мутационния спектър на тумор супресорни гени свързани с етиопатогенезата му.

Трудът е представен на 233 страници и е онагледен с 67 фигури и 36 таблици. Цитирани са 218 литературни източника на латиница и 63 уеббазирани източници и софтуерни приложения. Дисертацията по обем, структура и оформяне съответства на изискванията за научен труд за образователната и научна степен “доктор”.

В литературния обзор разгънат на 30 страници докторантът стегнато и компетентно представя данни относно епидемиологията, хистологичната и молекулярна класификация на РМЖ и генетичната предиспозиция. Обстойно са разгледани и добре илюстрирани структурата и функциите на тумор супресорните гени - *BRCA1*, *BRCA2* и *STK11*. Представена е и информацията относно мутационния спектър на тези гени при РМЖ. Накратко са сравнени принципите и методичните подходи, които се използват при откриване на мутационните изменения. Литературният обзор е центриран към планираните проучвания и като цяло показва много добро познаване на проблема, аналитично мислене и способност за обобщаване.

Това позволява да се формулира целта на проучването „Мутационен скрининг на гените *BRCA1*, *BRCA2* и *STK11* при пациенти от българска популация с рак на млечната жлеза“ и логично произтичащите от нея 5 конкретни задачи.

Проучването е осъществено върху репрезентативни групи болни с клинично верифициран РМЖ, спорадична и фамилна форма и контроли от българската популация. Приложени са подходящи, съвременни високоразрешаващи методи за молекулярно-генетичен анализ – таргетно екзомно секвениране от ново поколение(NGS) с използване на микрочипова платформа Illumina MiSeq, PCR, метод на топене с висока разрешителна способност (HRM), секвениране по Сангер. За оценка на функционалната значимост на генетичните нарушения в гените BRCA1, BRCA2 и STK11 от особено значение са използваните пакети от подходящи програми за биоинформационен (in silico) анализ. Откритите варианти са сравнени с подходящи референтни база данни (BIC, ALFRED, LOVD, COSMIC). Пет прогнозни софтуерни програми са приложени за оценка ефекта на откритите ДНК варианти. Ефектът на аминокиселинните замени в протеините кодирани от BRCA1, BRCA2 и STK11 гените е анализиран чрез 3D хомоложно моделиране с програмата Swiss-mode и с ProtParam програмата за оценка на биохимичните и биофизичните параметри на мутантните белтъци.

Чрез таргетното NGS секвениране са установени общо 104 варианта на гените BRCA1 и BRCA2 с различна клинична значимост, разпределени в 5 групи според ефекта им. От тях 20,8% с патологичен/вероятно патологичен ефект са установени при пациентите с фамилен РМЖ. Мутационният спектър е хетерогенен, като са открити точкови, фреймшифт мутации и такива засягащи сплайсинг местата в екзоните и интроните. В двата гена са регистрирани полиморфни варианти, 2 от които с висока честота и неописани до сега в базата данни. Вариантите са анализирани при компетентно прилагане на биоинформационния анализ, което показва, че докторантът го владее и използва много добре. Относително хетерогенни по своя характер са и мутациите в гена STK11 установени в 9,6% от пациентите със спорадичен РМЖ. Те са първи за нашата страна и допълват оскъдните данни за ролята на гена в патогенезата на РМЖ. Поради установения нисък процент от тях, 1,37% патологични мутации, докторантът логично предполага, че този ген е по- слабо ангажиран в етиопатогенезата на РМЖ.

Формулираните 5 извода съответстват на получените резултати и компетентно направената дискусия. Трудът има несъмнен теоретичен принос за изясняване на ролята на изследваните гени за развитие на заболяването. От методичните приноси свързани с въвеждането на използваните методи високо оценявам приложения системен биоинформационен анализ на данните от мутационния скрининг.

Авторефератът е изготвен съгласно изискванията и отразява напълно получените в дисертационния труд резултати, изводи и приноси.

Докторантът има 2 публикации в научни списания на английски език с IF, от които едната е цитирана 7 пъти от чужди изследователи. Освен това има 6 участия в наши и международни научни форуми.

### **Заключение**

Считам, че дисертационният труд на Георги Георгиев Антоv отговаря на всички изисквания на Закона за развитие на академичния състав в Република България и Правилника за неговото приложение. Разработваният проблем е актуален и с подчертана теоретична и практическа значимост. Използвани са съвременни изследователски методи за секвениране от ново поколение и е извършен прецизен и широко обхванат биоинформационен анализ. Получените резултати са с определен приносен характер, намерили са място в периодичния медицински печат и са докладвани на международни научни форуми. Това ми дава основание убедено да препоръчам на научното жури да предложи Георги Георгиев Антоv за присъждане на научната и образователна степен „доктор”.

22.11.2017 г.

София

Изготвил становището:

(Проф. д-р Ст.Лалчев, дм)