НАЦИОНАЛЕН ЦЕНТЪР
ПО ЗАРАЗНИ И
ПАРАЗИТНИ БОЛЕСТИ
№ 9
03.01 2025
Бул. „Янко Сакъзов" № 26
София 1504, тел: 9446990

С Т А Н О В И Щ Е

за дисертационен труд на тема:

„Механизми за регулация на Т-клетъчния имунен отговор и клиничното им значение"

за присъждане на научната степен „ДОКТОР НА НАУКИТЕ"

на доц. д-р МАРИЯ ХРИСТИЯНОВА НИКОЛОВА, ДМ

НАЦИОНАЛЕН ЦЕНТЪР ПО ЗАРАЗНИ И ПАРАЗИТНИ БОЛЕСТИ

София

Предпоставки и състояние на проблема.

Представеният за защита дисертационен труд, по професионално направление ***7.1.Медицина*** и по научна специалност ***Имунология***, е посветен на един изключително актуален и важен проблем на съвременната теоретична и приложна имунологична наука, тъй като разглежда Т-лимфоцитите като ключов участник в специфичния имунен отговор. С усъвършенстване на достъпните методи за изследване, нарастват познанията за тази основна лимфоцитна популация. Доц. Мария Николова посвещава дисертационния си труд на нови Т-клетъчни антигени (SC5 и CD160) със задълбочено описание на функционалното им значение при здрави лица и различни по продължителност и антигенен товар социално значими хронични инфекции, както и на участието на регулаторните Т-клетки в антиген-специфичния Т-лимфоцитен отговор. Основна цел на разработката е да се характеризират параметрите на ефективния Т-клетъчен имунен отговор, като се използват подходящи констелации от функционални молекули и фенотипни маркери, както и да се разкрият някои регулаторни механизми с патогенетично значение при хроничните прогресиращи инфекции.

Техническо оформление.

Дисертационният труд обхваща 277 печатни (компютърни) страници, от които 247 страници текст и 30 страници библиография. Богато илюстриран е със 75 високоинформативни и добре разяснени фигури, 15 таблици и 4 приложения. Трудът е структуриран като: въведение, три основни части, обобщение, изводи и приноси. Всяка от основните части включва обосновка, задачи, резултати с обсъждане и обобщение.

Уводните части към основните глави представляват отличен преглед на познанията в съответната област, осмислен с вещина, зрялост и критичност. Написани са много компетентно, достъпно и с вътрешна логика.

Книгописът обхваща 480 заглавия. От тях 12 са на кирилица, а останалите 468 – на латиница, като повече от половината са от последните 10 години (262/480).

Материал и методи.

Дисертационният труд включва значителен клиничен материал от последните 12 години - 622 лица – пациенти и здрави контроли. Изследвани са 452 пациенти с различни хронично протичащи инфекции. Групирани са според етиологичния причинител – 277 HIV-1-положителни лица, подложени или не на комбинирана антиретровирусна терапия и 175 лица с EBV (остра или реактивирана латентна), HBV, CMV (хронична), MTB (активна и вероятно латентна) и фокална одонтогенна инфекция. Добре са дефинирани критериите за включване и изключване. Контролните групи включват 170 клинично здрави лица, изследвани по 46 показателя – 27, свързани с CD8+ Т-клетки, 18 – с CD4+ Т- и 1 – общо за лимфоцитната популация. Коректно са посочени местата на съответните изследвания и осъществената

колаборация, отразени като специализирани авторски колективи при публикация на произтеклите резултати. Броят на изследваните лица, както и прецизният подбор на пациентите и контролните групи, безспорно е предпоставка за получаване на достоверни и клинично значими резултати.

Държа да отбележа, че независимо от факта, че доц. д-р М. Николова завежда национална референтна лаборатория по имунология, тежестта на работата й не пада върху методологията. Използваният голям набор от най-съвременни, адекватни, прецизни и високо информативни методи е само инструмент за постигане на поставените цели и задачи. Те включват количествени и функционални имунологични тестове, свързани с различни варианти на флоуцитометрични определяния, клетъчно култивиране и сепарации, хибридомна техника, имуносорбентни тестове (ELISA), радионуклеотидни измервания (^{3}H, ^{51}Cr), молекулярно-биологични методи – полимеразноверижни реакции с обратна транскриптаза (RT-PCR) и количествен PCR в реално време (qPCR), натриев додецилсулфат полиакриламидна гел-електрофореза (SDS-PAGE), Western блот, имуногенетични изследвания, включващи микрочипов анализ, подходящо подбрани статистически методи.

Резултати и дискусия.

Получените резултати са представени коректно, изчерпателно и нагледно, в съответните основни части от разработката. В първия етап от работата е описано получаването на моноклонални антитела, разпознаващи нови Т-клетъчни функционални рецептори или епитопи (SC5, BY55), със задълбочена характеристика на биохимичните свойства, експресията и функцията им по отношение на клетъчната активация, пролиферация и сигнална трансдукция при физиологични условия и прояви в болестни състояния – кожни Т-клетъчни левкемии/лимфоми и в условията на хронична вирусна инфекция.

Вторият етап има особена тежест в работата и е посветен на диференциацията на Т-лимфоцитите в хода на физиологичния антиген-специфичен имунен отговор при клинично здрави лица, както и на отклоненията от него в хода на персистиращите изброени социално-значими хронични инфекции. Доц. Николова убедително показва преходите между Т-лимфоцитните субпопулации, характеризиращи се със съответен набор от функционални молекули – повърхностни, вътреклетъчни или освобождавани от клетките. Нещо повече, в зависимост от продължителността и антигенния товар, са проследени отклоненията от баланса между Т-клетъчните субпопулации при липсата на пълноценен протективен имунен отговор. Използвани са широки панели антитела за мултипараметърен анализ на CD4- и CD8-положителните Т-лимфоцити в хода на диференциацията, способността за пролиферация, цитолитичен потенциал и мониториране на имунното възпаление. Въз основа на получените резултати са оценени практически достъпните и значими маркери на имунното възпаление (CD38), отличаващи хроничната вирусна инфекция и нейната прогноза (CD160) и възможностите за комплексна фенотипна оценка на състоянията на имунно възпаление с различно антигенно натоварване. Натрупаният теоретичен и практически опит кристализира в предложения диагностичен алгоритъм за оценка на пациенти с вероятно имунно възпаление.

Третият етап обобщава изследванията на механизмите за модулиране на Т-клетъчния отговор от регулаторните CD4+ Т-клетки (Treg) във физиологични условия и при HIV+ лица. С елегантно подбрани и прецизно изпълнени тестове са показани ефектите на Treg върху CD8+ Т-клетъчни субпопулации на здрави лица при тяхната пролиферация, диференциация и апоптоза. Оригинални са изследванията върху сигналните пътища PD1/PD-L1 и CD39/ATP при HIV+ пациенти.

Обобщенията и изводите от научната разработка отразяват адекватно получените резултати. Няма съмнение, че проучването е лично дело на докторанта. **Теоретичната му стойност** е свързана с актуализиране на познанията върху протективния, ефикасен Т-клетъчен имунен отговор и механизмите за неговата регулация в условията на имунно възпаление. Обобщени, те биха представлявали ценно **практическо ръководство** за имунологичната практика, особено ако се оформят в отделно издание. Резултатите от дисертационния труд вече намират **практическо приложение** в областта на инфекциите с различна тежест и продължителност – диагностика, мониториране и прогноза за HIV+ лица, такива с туберкулозна и предимно хронична вирусна инфекция, в хепатологията – HBV и EBV хепатити, онкохематологията. Много от характеризираните функционални молекули представляват и подходящ таргет за имунобазирано специфично лечение. Съгласна съм напълно с предсавените приноси.

Трябва да се отбележи отлично написаният и четивен текст, с прецизен научен стил и подходящо оформление. Могат да се забележат и незначителни технически слабости – някои повторения, липса на пояснения за използваните съкращения, нерядко и на български и английски език, изписването на поясненията по у-оста в графиките, правописни грешки (пр. често десетична точка вместо български правилната десетична запетая в дробните числа). Тези дребни недостатъци в никакъв случай не намаляват стойността на предложения дисертационен труд.

Авторефератът коректно представя основните проблеми, разгледани в дисертационния труд. Приложен е списък от публикации (32), доклади и научни съобщения (37), свързани с темата на проучването и неговото популяризиране. Отразени са IF (импакт факторът) на списанията, в които са публикувани научните резултати, цитиранията (143) и участията в научно-изследователски проекти (7, от които 3 с ръководител доц. М. Николова), свързани с дисертацията:

публикации	**списание**	**език**	**брой**	**IF**	**конгреси**	**език**	**брой**	**IF**
	българско	български	1		български	български	8	
	българско	английски	6		чужбина	английски	3	резюме
	чуждестранно	английски	14	62,936	чужбина	английски	19	
	чуждестранно	английски	9		**доклади**	български	4	
монографии		английски	3			английски	3	
		Общо:	33			Общо:	37	
				Общо:	**70**			

В заключение считам, че дисертационният труд, представен от **доц. д-р Мария Християнова Николова** на тема: **„Механизми за регулация на Т-клетъчния имунен отговор и клиничното им значение" ОТГОВАРЯ НА ИЗИСКВАНИЯТА** на закона за развитие на академичния състав в Република България **ЗА ПРИСЪЖДАНЕ НА НАУЧНАТА СТЕПЕН „ДОКТОР НА НАУКИТЕ"**, поради което убедено давам **ПОЛОЖИТЕЛНА оценка**.

Д-р Попова

Доц. Дора Николова ПОПОВА, д.м.
Военномедицинска академия, София

София, 3.01.2013 г.