



**НА ВНИМАНИЕТО НА ЧЛЕНОВЕТЕ
НА НАУЧНОТО ЖУРИ /НЖ/, ОПРЕДЕЛЕНО
СЪС ЗАПОВЕД № 276/06.10.2025 г ,ИЗДАДЕНА
ОТ ДИРЕКТОРА НА НЦЗПБ, СОФИЯ**

РЕЦЕНЗИЯ

На дисертационния труд на Доц. Ивайло Алексиев Иванов, , завеждащ НРПЛ по HIV и завеждащ отдел „Вирусология“ при НЦЗПБ на тема: „Антиретровирусна резистентност и молекулярна епидемиология на HIV-1 в България: интегриран анализ на генетичното разнообразие, филодинамиката и демографските корелации“ за придобиване на научната степен „Доктор на науките“ по научна специалност „Вирусология“ в област на висшето образование: 4. „Природни науки, математика и информатика“, направление 4.3. „Биологически науки“, за нуждите на отдел „Вирусология“ на НЦЗПБ. София

от проф. дмн Радка Младенова Аргирова, лекар-вирусолог, Клинична Лаборатория, УМБАЛ Токуда, София

УВАЖАЕМИ ЧЛЕНОВЕ НА НАУЧНОТО ЖУРИ,

Доц. Ивайло Алексиев е завършил Биологическия Факултет на СУ „Св. Климент Охридски“ през 1994 г. В НЦЗПБ постъпва в НРПЛ по HIV през 2003 г., а през 2008 г. придобива специалност „Клинична вирусология“. За времето 2008-2011 г. е докторант в НЦЗПБ, през 2011 г. придобива ОНС „доктор“ след успешно защитен дисертационен труд. От 2014 г. е доцент, от 2016 – завеждащ НРПЛ по HIV, а от 2024 г. - Завеждащ отдел „Вирусология“ при НЦЗПБ.

От 2006 до 2018 г. авторът е участвал в 6 курса за специализация главно в областта на секвениране, биоинформатика и подобни аспекти на молекулярната биология на HIV в редица световни и европейски центрове, сред които се откроява спечелената и успешно осъществена стипендия „Фулбрайт“ като гост-изследовател в Университета на Флорида, САЩ (5 месеца), обучението по филогенетика и NGS, CDC, Атланта, САЩ (2 месеца) през 2013 г., 2-седмичното обучение по секвениране и анализ на резистентни мутации при HIV в Люксембургския институт по здравеопазване и 4 краткосрочни обучения в Италия, Гърция и Египет.

Актуалност на дисертационния труд

В основата на този труд лежи дългогодишна научно-изследователска и диагностична дейност на Ивайло Алексиев по **потвърдителната диагностика** на HIV-инфекцията с владене и използване на всички съвременни молекулярно-биологични методи, както и **биоинформатиката на модел HIV**, включваща секвениране и анализ на резистентни мутации при HIV, възникващи в хода на антиретровирусната терапия (АРТ). Нещо повече, СЗО все още не е отменила пандемията HIV/СПИН и дори само в този смисъл дисертационният труд е актуален. По своята същност, в този труд изводите от приложените изследвания са важни и необходими както на индивидуално, така и на популационно равнище, тъй като директно показват в динамика хода на HIV-1 епидемията в България – разпространение на вируса – географско и сред отделни общности, таргетни групи и взаимодействието между тях. Получените данни са основание и задължават към специфично насочени интервенции от страна на правителствени и неправителствени организации, отговорни за общественото здраве. От друга страна, молекулярно-вирусологичните анализи обогатяват знанията ни за еволюцията на HIV-1 на локално и глобално равнище. С тези думи изразявам убеденост в актуалността на настоящия труд.

Дисертационният труд е написан на 310 стр., има общоприетата структура за подобен труд, съдържа литературен обзор - 87 стр., резултати - 92 стр., библиографията обхваща 15 стр. с 342 литературни източници, официални документи и бази данни, 43 таблици и 58 фигури.

Литературният обзор включва исторически и съвременни данни за сем. Retroviridae и HIV, подробна история и описание на съвременната АРТ, използвана и у нас, данни за трансмисионната и придобита лекарствена резистентност, генетично разнообразие на HIV-1, субтипироване и филогенетичен анализ с подробно описание на използвания инструментариум. Силно впечатление прави съществуването на множеството субтипове на HIV-1 и непрекъснатото възникване на нови вирусни варианти. Това разнообразие, съчетано с регионалните различия в разпространението на специфични генетични форми, създава значителни предизвикателства пред диагностиката, лечението и превенцията на HIV инфекцията. Особено важно се очертава влиянието на субтиповата принадлежност върху развитието на лекарствената резистентност, което варира значително между различни географски региони и популационни групи. Обзорът е много богат, цитирани са най-съвременните изследвания и

са изведени перспективите от тях за терапията и епидемиологията. В края на литературния обзор авторът обръща специално внимание на пропуски в знанията ни, недостига на данни и цялостен анализ на генетичното разнообразие на циркулиращите HIV-1 варианти, на детайлните изследвания на лекарствената резистентност, както и задълбочени филогенетични проучвания на еволюционната динамика и международните връзки на местната епидемия. Според автора е „особено важно разбирането на трансмисионните мрежи и кълстери, които могат да очертаят приоритетите в превантивните интервенции и да осигурят насоки за таргетиране подходи към специфични рискови групи“. От литературния обзор логично произтичат и **целта и задачите на дисертационния труд**.

Целта е ясно формулирана, в дефинирането и се вижда не само цел на този труд, но и национално отговорното изследване, целящо оптимизиране на терапевтичните стратегии и усъвършенстване на политиките в областта на превенцията на общественото здраве. **Задачите** са описани подробно в 5 раздела, отразяващи и историческата приемственост и развитие в работата на лабораторията. Изключителната сложност и комплексност на задачите излиза далеч от чистата вирусология, като те засягат епидемиология, поведенчески науки, първична превенция, връзка „вирусни варианти – лекарствена резистентност – епидемично разпространение“ и още тук се предвкушава приноса на този труд.

Материали и методи. Подробното описание на използваните методи с техните предимства, недостатъци и перспективи внушават пълно доверие в изводите и препоръките от дисертационния труд. В труда успешно са секвенирани и подложени на детайлен анализ фрагменти от *pol* гена на HIV-1, изолирани от кръвни проби от 1654 индивида (38,9%) от общия брой 4277 лица с HIV-1 инфекция, регистрирани в периода между януари 1986 година и декември 2023 година. Критерий за включване в молекулярно-генетичния анализ е било наличието на вирусен товар над 1000 копия/мл. Групата лица, чиито проби са секвенирани се състои от 1396 (84.4%) мъже и 258 (15.6%) жени. Сред тях MSM са 762 мъже (46.1%), 670 (40.5%) са случаите с хетеросексуално предадените инфекции, тези, използващи ИВН са 199 случая (12,0%) и 23 случая са от смесената категория MSM+ИВН с 23 случая (1.4%). Детайлният сравнителен анализ на двете основни използвани системи за генотипиране - Applied Biosystems ViroSeq™ HIV-1 genotyping system v2.0 и Siemens Visible Genetics TRUGENE™ HIV-1 - разкрива специфичните характеристики и възможности на всяка платформа. Сравнението между двете системи показва, че ViroSeq осигурява по-широко покритие на *pol* гена, включвайки пълна секвенция на протеазата и по-дълъг

фрагмент от обратната транскриптаза. Анализът на резистентните мутации включва Система за оценка на резистентността чрез HIVDB, която отчита пет различни нива на лекарствена резистентност, описани и използвани от автора. Показана е класификация на резистентните мутации, както и отношението им към отделните класове АРТ. Следват различни техники за субтипване, включително интернет-базирани инструменти и мануални методи за филогенетичен анализ. Интернет-базираните инструменти като COMET, REGA, HMM-based jpHMM, RIP и BLAST Search, използващи различни методи и алгоритми за филогенетичен и рекомбинантен анализ, са използвани за предварителна оценка на изследваните секвенции. Статистическият анализ, който е от ключово значение за разкриването на сложните взаимодействия между генетичните аспекти на патогените и техните епидемиологични проявления включва внимателно подбран набор от епидемиологични характеристики, за да се обхване широк спектър от потенциални влияния и взаимодействия. Към края на тази глава е приложен анализ от избрани публикации по темата на дисертацията - тук авторът предлага на читателя произход и разпространение на суб-епидемиите от HIV-1 CRF01_AE, субтип В, С и др. Не съм убедена, че анализът от т. 3.5 правилно е ситуиран в раздела „Материал и методи“, но значението на изводите от него е важно, защото е предпоставка за изводите в целия дисертационен труд, а и авторът винаги има право. Специално подчертавам, че тази глава се чете с изключителен интерес.

Резултати. Това е най-интересната част в дисертационния труд. В тази рецензия е възможно да се анализират само най-важните и значими, а не всички резултати. На основата на предшестващи резултати (инициирани, изпълнени и публикувани от ръководения от дисертанта колектив) за първи път е извършен интегриран анализ на пространствено-временната динамика и глобалните филогенетични връзки на основните HIV-1 субтипове в България. Този анализ съчетава сложни миграционни модели, многобройни независими въвеждания на HIV-1 варианти от различни географски региони и „пристигнали“ в България по различни пътища. Вече вътре в страната се разкрива неравномерно регионално разпределение, с концентрация в големите градски центрове, дори с характеристиката на локализиран епидемични взривове, което подчертава значението на този подход за стратегическо епидемиологично планиране и контрол. Така логично се стига до молекулярно-вирусологичен анализ на трансмисионните клъстери на въведените и разпространени HIV-1 субтипове в България, което е венецът и обединителното звено на всички предшестващи изследвания. Клъстерите са групи от вирусни изолати, които показват генетична близост,

предполагаща, че те принадлежат на пациенти, инфектирани най-вероятно чрез общи пътища. Основната цел на филогенетичния анализ е да се установи генетичната връзка между вирусните изолати от различни пациенти и да се идентифицират пътищата на предаване на вируса в рамките на определени рискови групи. Тази задача е успешно изпълнена, нещо повече – именно „данните от анализа на избрани по-ранни публикации“ и използвани тук позволяват да се направят редица сравнения за хода на епидемията във времето – напр. за пътя на навлизане (въвеждане) на вируса в страната. Данните показват, че още в началото на епидемията източниците на вируса са основно в страната, а не са внесени отвън - 88.4% от лицата от първата група декларираха заразяване в страната. Този извод противоречи на твърдения от началото на епидемията, че HIV основно е внесен у нас отвън. Характеристиките на отделните клъстери и разпространението на вируса вътре в тях са изчерпателни, информативни и с потвърдителен характер. Главният извод от тези богати изследвания е, че трябва сериозно да се влезе с промоционно-профилактични и информационно-образователни съвременни активности в новото поколение общности на MSM и УИН. В този смисъл дисертационният труд има действителен принос за общественото здраве. Към това ще добавя и „детективското“ разкриване на активни трансмисионни мрежи на HIV-1 с доминиране на MSM-MSM връзки и значими междупопулационни MSM-ХЕТ връзки, което предоставя материал за размисъл и специфично таргетиране на епидемиологичния надзор.

По отношение на антиретровирусната резистентност – особено интересен е изводът, че е документирана контролирана епидемия на трансмисионна резистентност с честота 5,7% при 1053 нелекувани пациенти, съответстваща на критериите на СЗО за успешен епидемиологичен контрол. Това е много добра атестация както за лабораторията, така и за лечебното звено в Инфекциозна болница. Тук въпросът ми е защо този резултат е описан като „контролирана епидемия“. Продължава ли търсенето на трансмисивна резистентност у всеки новооткрит носител на HIV-1 и има ли данни за динамиката във времето за тази резистентност. От особена важност е оценката на клиничното значение на идентифицираните мутации, асоциирани с лекарствена резистентност. Тази оценка има две значения: пряко влияе върху избора (когато е възможен) на антиретровирусни режими, като позволява избягване на медикаменти с намалена ефективност. Последното пък силно спомага за прилагане на персонализиран терапевтичен подход, базиран на генотипен анализ, с цел повишаване на

терапевтичния успех и ограничаване на допълнителното развитие на резистентност в клиничната практика при лицата с HIV.

Тук трябва да отбележим и специализираната монография на дисертанта HIV АНТИРЕТРОВИРУСНИ МЕДИКАМЕНТИ И РЕЗИСТЕНТНИ МУТАЦИИ, 2024 г., в която много подробно е описан опита на автора и НПЛ по HIV по антиретровирусната резистентност. Там се обсъждат въпроси като праг на резистентност, както и възникването на множество мутации при 84 пациенти, лекувани с NRTI. Авторът обръща внимание на едно „поразително“ откритие в областта на субтип-специфичната резистентност - изключително високото ниво на резистентност при субтип F1, където 94,5% от всички изолати съдържат поне една резистентна мутация. Това представлява уникален феномен в глобалния контекст на HIV резистентността и изисква задълбочен анализ на възможните механизми. В най-ново изследване на дисертанта [Alexiev et al., 2025] се потвърждават високите нива на резистентност при не-B субтипове в България, което показва, че различните субтипове имат различни мутационни профили.

Обсъждането на резултатите е многостранно, комплексно и отново подчертава уникалното разнообразие на българската HIV епидемия, тясно свързана с географския кръстопът, на който се намира страната, както и сериозния принос, който „малката“ епидемия може да даде към глобалното разпространение и еволюция на вируса. В обсъждането, както и в литературния обзор се разкрива вирусолог – молекулярен биолог и биоинформатик с висока професионална научна култура, която авторът ежедневно попълва, но и сам допринася за нейното разпространение чрез своя опит. Дисертационният труд е уникален с богатството си, с анализа и приносите и изводите, с които изразявам пълно съгласие. Отново се съгласявам с автора и неговите по необикновен начин структурирани изводи, напълно съответстващи на поставените задачи и главната цел. Трудът е написан увлекателно и ясно, с явно старание за използване на български език, прекрасно илюстриран и онагледен, може да служи за пример както за изследователска работа, така и за оформяне на дисертационен труд.

В течение на годините Ивайло Алексиев е развил необикновена и нечесто срещана триада – експериментатор, аналитик и организатор – при това с ясно очертана последователност в целите на изследванията си, конкретни изводи с фундаментален научен характер, водещи до следващите експерименти. В интензивния научен живот и дейност на Алексиев всяка публикация ражда нова перспектива, трудовете му носят завършен

характер, но надничашото зад всеки от тях ново предизвикателство предопределя неговата и на лабораторията дейност като че ли като безкрайна и все по-задълбочена. Перспективността на изследванията, представени в този труд, е безспорна. И още нещо – изследванията му винаги бележат потенциал за възможно практическо приложение и практическа полза за индивида и за общественото здраве.

Публикационната активност на Ивайло Алексиев е забележителна. За целите на придобиване на научната степен „доктор на науките“ Ивайло Алексиев прилага 8 научни статии в рецензирани международни списания с общ импакт фактор 29.97 и една монография, издадена през 2024 г. Публикациите са намерили място в 7 списания с квантил Q1 и едно – с квантил Q2. За периода 2020-2025 са открити 363 цитирания, а за целия му научен път досега – общо 590 цитирания. Наукометричните му данни покриват и надхвърлят изискванията за придобиване на научната степен „доктор на науките“ - 498 срещу изискуеми 350 т. според ЗРАКРБ и Правилника на НЦЗПБ. Отделно, 970 български секвенции изолирани от pol гена на HIV-1 в НРПЛ по HIV са публикувани в GenBank, за да са достъпни за световната научна общност,

Доц. Ивайло Алексиев е установил трайни научни международни контакти с водещи научни институти и организации, които са често партньори и съавтори в изследователската му дейност - CDC, Атланта, САЩ, Университетът на Флорида, САЩ, Campus Bio-Medico University, Рим, Италия, Люксембургския Институт по здравеопазване и др. Неговите изследвания са финансирани от НЦЗПБ, Министерството на здравеопазването на Република България (проект ДН03/2 от 16.12.2016 г., Фонд „Научни изследвания“, както и по проект BG05M2OP001-1.002-0001 по Оперативна програма „Наука и образование за интелигентен растеж 2014–2020“, съфинансирана от Европейския фонд за регионално развитие. Всичко това показва пълна увереност и надеждност от страна на донорите по отношение на провежданите изследвания и получените резултати.

Отделно подчертавам педагогическите способности на Ивайло Алексиев, обучил вече около 10 души на биоинформатика на модел HIV, както и учебната му заетост, които не са предмет на тази рецензия. Той е организатор на ежегодни Конференции по HIV, на които се обменя научен и практически опит по диагностика, лечение и всички новости в тази бързо развиваща се област на медицината, биологията и еволюцията.

В заключение, оценката на дисертационния труд на доц. Ивайло Алексиев представя кандидата като високо ерудиран научен изследовател в областта

на фундаменталната вирусология, молекулярната епидемиология и биоинформатика в областта на HIV инфекцията в контекста на българската HIV епидемия, с уникални характеристики на тази епидемия, публикувани в най-престижните световни научни списания и бази данни, което ми дава основание да гласувам категорично „ЗА“ придобиването на научната степен „доктор на науките“ от автора на този труд. Открито призовавам и останалите членове на научното жури да подкрепят моя вот и оценка.

София, 11.11.2025

РЕЦЕНЗЕНТ:

/Проф. ДМН Радка Аргирова/