

До уважаемите членове на Научното жури,
определено със заповед № Р-109 –
18/28.01.2019 г. на Ректора на МУ-Варна

Рецензия

от доц. д-р Любомира Николаева-Гломб,
завеждащ Отдел „Вирусология” на НЦЗПБ, София

на дисертационен труд за присъждане на ОНС “доктор”
в област на висше образование 4. Природни науки, професионално направление
4.3. “Биологични науки” по научна специалност “Вирусология”

на д-р Деница Тодорова Цанева-Дамянова,
на тема „Клинико-лабораторно проучване върху разпространението на
вирусни хепатити *B* и *D* в обща популация и при пациенти с хронични
чернодробни заболявания в Североизточна България. Продължителност на
HBV постваксиналния имунен отговор при ваксинирани лица”

представен за защита пред научно жури, утвърдено със заповед
№ Р-109 –18/28.01.2019 г. на Ректора на МУ-Варна

Декларирам, че нямам конфликт на интереси по смисъла на чл. 4, ал. 5 от
Закона за развитие на академичния състав в Република България (ЗРАСРБ), както и по
чл. 6, ал. 2 от Правилника за приложение на ЗРАСРБ на МУ-Варна.

Нямам общи публикации с д-р Деница Тодорова Цанева-Дамянова.

Представените ми материали по защитата на дисертационния труд отговарят на
изискванията на ЗРАСРБ и на Правилника за прилагането му.

Актуалност на разработвания проблем

Повече от 350 млн. души по света са инфектирани с вируса на хепатит *B*.
Съществена особеност на инфекцията е способността за персистенция. Индивидите с
хроничен хепатит *B* са постоянен източник на инфекция като съотношението
болни/вирусоносители може да достигне и до над 1/200. Персистентната вирусна
инфекция често води до тежки увреждания на черния дроб, прогресираща чернодробна
недостатъчност и смърт. Предизвикателство е и т.нар. окултен хепатит *B*.

Поради голямото здравно и социално значение на инфекцията ваксинацията срещу хепатит *B* е в имунизационния календар на повечето страни по света. У нас задължителна масова имунизация на новородените се прилага от 1992 г. насам. Според анализ на НЦЗПБ след въвеждането на задължителната имунизация годишната заболяемост от остър хепатит *B* постепенно и постоянно намалява, особено в групата на децата и подрастващите, което корелира с постепенното и постоянно увеличаване на кумулативния брой на имунизираните. Най-висока заболяемост се наблюдава във възрастовите групи, необхванати от задължителната имунизация. От друга страна обаче, относителният дял на хроничните инфекции с вируса на хепатит *B* не показва очаквано значимата тенденция за намаляване. В резултат на повече от 30-годишния глобален опит от прилагането на ваксината срещу хепатит *B* се установява също, че 5 до 10% от населението са т.нар. *non-responders*, т.е. хора, които не отговарят с образуване на достатъчно напрегнат имунитет след прилагане на стандартна схема на ваксиниране. Неотговорилите и след провеждане на втора серия на имунизирани се приемат като възприемчиви за инфекцията.

Съществуването на подобни факти налага необходимостта от изследване както на разпространението на вируса сред общата популация и сред хората с чернодробна увреда, така и на наличието и продължителността на поствакциналния имунен отговор.

Тясно свързано с разпространението на вируса на хепатит *B* е разпространението на вируса на хепатит *D*. *De facto*, не може да има хепатит *D* без наличие на вируса на хепатит *B*. В България вируса на хепатит *D* се открива в около 5 до 6% от хората с вирусен хепатит *B*. Поради относителната му рядкост все още липсват по-обширни изследвания за ролята му в чернодробната патология в нашата страна.

Представената дисертация е посветена именно на тези актуални проблеми.

Литературна осведоменост, цел и задачи, методична страна

Литературният обзор (57 страници, около 1/4 от дисертацията) запознава читателя с двата хепатитни вируса – съвременната им класификация, структура, организация на генома, репликативен цикъл, експериментални модели *in vitro* и *in vivo*. Обърнато е специално внимание на епидемиологията, категориите вирусноносителни, патогенезата на инфекцията и клиничните особености на протичането ѝ. Напълно в съответствие с разработваната тема много подробно са описани диагностичните подходи и клиничното и прогностично значение на диагностичните маркери. Намерено

е място и за съвременната терапия на инфекцията с вирусите на хепатит *B* и *D*. Ваксинопрофилактиката също има своето място, още повече че една от задачите в дисертацията е проучване на продължителността на поствакциналния имунен отговор. Обзорът е подкрепен с цитиране на внушителен брой литературни източници (общо 567 източника като значителна част от тях са публикувани в последните години). Издирени са публикации на българските автори, работили в областта на диагностиката на вирусните хепатити, интерпретацията на диагностичните маркери, епидемиологията на инфекцията с вирусите на хепатит *B* и *D*. Обзорът е структуриран така, че убеждава в необходимостта от предприетото проучване. В текста прозира задълбоченият поглед на автор с изградени умения и капацитет за обобщаване на натрупания световен и местен опит и за съгласуване и интегриране на настоящите познания към целите на разработваната дисертация.

Дисертантката си поставя две **цели**, макар те да са дефинирани като една обща цел:

1. Да се проследи разпространението на инфекцията с вирусите на хепатит *B* и *D* сред населението в Североизточна България и етиологичната връзка с хронични чернодробни заболявания, включително и да се определи относителния дял на окултната инфекция;
2. Да се проучи продължителността на поствакциналния имунен отговор.

Произтичащите от целите **задачи** са ясно формулирани и детайлно описани.

В своето проучване авторката формулира две *хипотези*:

1. Намаляване на относителния дял на хронично заразените с вируса на хепатит *B* (и *D*) в резултат на въвеждането на задължителна масова имунизация;
2. Допускане на относително високо ниво на разпространение на окултна инфекция с вируса на хепатит *B*.

В главата “**Материали и методи**” следва да се обърне внимание на големия брой обработени клинични материали (почти 14 000) за относително дълъг проучван период (8-годишен). Такова количество и времеви интервал позволява достоверна интерпретация на резултатите, коректни изводи и очертаване на тенденции.

От **методична гледна точка** дисертацията е модерна – приложени са съвременни имуноензимни и молекулярнобиологични методи. Използвани са готови

търговски китове за *ELISA*, за екстракция на вирусна ДНК и за полимеразно-верижна реакция в реално време (*real time PCR*). Това осигурява униформеност, проследимост и достоверност на резултатите. Всички резултати са статистически обработени.

Резултати, изводи и приноси на дисертационния труд

Извършена е внушителна по обем работа. Получените резултати са представени подробно, прецизно и достъпно. Възприемането на информацията е улеснено от 93 таблици и 45 фигури. След всяка изпълнена задача е направен сравнителен анализ и дискусия, като са изведени и съответни заключения. Този стил на представяне на резултатите значително улеснява възприемането на обемния фактологичен материал.

Ретроспективното проучване сред общата популация в Североизточна България установява, че в проучвания осемгодишен период се очертава тенденция за слабо понижение на носителството на *HBsAg*. В същото време почти половината от изследваните лица, подбрани на случаен принцип, са положителни за антитела срещу този антиген. За съжаление няма данни дали това е отражение на поствакцинален имунитет или е белег за преминала инфекция. Т. нар. хепатитни маркери обикновено се търсят по клинични показания и е трудно даните да се съотнесат към общата популация.

Проучването сред популацията на хората с чернодробно заболяване показва, че относителният дял на носителството на *HBsAg* е значително по-висок, докато относителният дял на индивидите с анти-*HBsAg* антитела е значително по-малък в сравнение с данните за общата популация.

Друга задача на дисертанта, която е изпълнена успешно, е да се установи относителният дял на инфектираните едновременно с вирусите на хепатит *B* и *D*. Много добро впечатление прави проследяването на вирусологичния отговор в различните етапи на лечение и сравнението на отговора по отношение на товара на двата вируса при различните терапевтични схеми.

Широкомасштабното проучване на разпространението на инфекцията с хепатит *B* и *D* в общата популация на Североизточна България е несъмнен принос на дисертантката. Към него трябва да се добави и приносният характер на проучванията върху взаимовръзката между двата изследвани вируса и ефектът от противовирусната терапия.

Проблемът за съществуването на окултната инфекция с вируса на хепатит В е разпознат в 80-те години на миналия век. Данните за разпространението на инфекцията се различават твърде много за отделните страни и в зависимост от лабораторните методи, прилагани за откриването ѝ. За много региони дори липсват данни. Затова приемам за изключителен принос резултатите, получени чрез строго следване на утвърдените критерии за дефиниране на окултен хепатит В. Въз основа на изследванията на дисертантката в момента разполагаме с точни данни за относителния дял на лицата с окултна форма на инфекция с вируса на хепатит В в Североизточна България.

Втората цел на дисертационната разработка – проучване на продължителността на поствакциналния имунитет след въвеждането на масовата имунизация срещу хепатит В – също е изпълнена успешно. Установено е, че с напредване на възрастта се наблюдава относителен спад в количеството на протективните антитела. Все повече се налага мнението, че защитният ефект на имунизацията с рекомбинантната ваксина срещу хепатит В е с продължителност до 10-15-20 години. След този период имунитетът постепенно избледнява. Данните на авторката потвърждават този факт. При част от имунизираните лица нивото на защитните антитела спада под откриваемия минимум. Световният опит обаче е установил, че при бустерна еднократна доза се провокира мощен имунен отговор поради съхранената имунологична памет в лимфоцитите. Установеният от автора факт, че при по-голямата част от имунизираните на възраст над 15 години липсват откриваеми чрез съвременните методи протективни антитела, ѝ позволява да препоръча еднократна реваксинация (бустерна доза) след 15-годишна възраст.

Въз основа на получените резултати са формулирани и **изводите**, с които в общи линии съм съгласна. Бих препоръчала обаче по-сбитото им и по-лаконично дефиниране. Някои от изреченията в тях са дори излишни (като напр. *“Серологичните методи предлагат достоверна информация.....”* – това не е резултат от проучването в дисертацията и съответно извод от резултата, а факт, въз основа на който дисертантката е подбрала един от методите си на изследване). Тъй като главата с изводите е подразделена съответно на “Изводи” и “Препоръки” смятам, че мястото на последните два извода в точка 5.4. е в “Препоръки”

Приемам и справка с **приносите**, описани като такива с оригинален, с потвърдителен и с приложен характер. Значимостта на **оригиналните приноси** изтъкнах по-горе в рецензията си. Приносите с **потвърдителен характер** допълват и обогатяват досегашните познания в областта. Приносите с **приложен характер** са стабилно основание за дадените препоръки.

Оформяне на дисертационния труд

Представеният ръкопис се състои от 221 стандартни страници и следва традиционната схема на изложение: увод – 1 стр., литературен обзор – 57 стр. собствени изследвания – 137 стр, състоящи се от: цел и задачи – 3 стр., материали и методи – 14 стр., резултати и обсъждане – 115 стр., изводи – 4 стр. и справка за приноси – 1 стр. Собствените изследвания са подкрепени от 93 фигури и 45 таблици. Списъкът на цитираната литература обхваща 567 източника. Дисертационният труд е изготвен в пълно съответствие с изискванията на Правилника на МУ-Варна.

Оформяне на автореферата

Авторефератът също съответства на изискванията и отразява коректно в съкратена форма съдържанието и основните постижения и приноси на дисертацията.

Публикации във връзка с дисертацията

Публикационната активност на докторантката във връзка с работата ѝ по дисертацията отговаря на изискванията на Правилника за приложение на ЗРАСРБ в МУ-Варна. Представя три статии, като и в трите е първи автор. Две от тях са публикувани в български списания с научно рецензиране, а една е публикувана в българско научно издание, реферирано и индексирано в световно известни база данни с научна информация и което е с *SJIF* 7,774. И трите списания, в които е публикувала авторката се издават на английски език и са видими във виртуалното научно пространство. Резултати от дисертацията са представени и на 5 научни форума, 1 от тях е проведен извън България, а 3 от форумите са международни.

Заклучение

Представената дисертация е напълно достатъчна по обем, методични подходи, получени резултати и извлечени приноси и представлява завършен научен труд, отговарящ на изискванията за придобиване на образователната и научна степен „доктор” според Закона за развитие на академичния състав в Република България и на Правилника за прилагането му в МУ-Варна. Налице са научни и научно-приложни резултати, представляващи оригинален принос в науката. Дисертационният труд показва, че докторантката притежава задълбочени теоретични знания и професионални умения, както и способност за самостоятелни научни изследвания.

Убедено давам своята **положителна оценка** и предлагам на почитаемото научно жури да присъди образователната и научна степен “доктор” на Деница Тодорова Цанева-Дамянова в област на висше образование 4. Природни науки, професионално направление 4.3. “Биологични науки” по научна специалност “Вирусология”.

София, 18 февруари 2019 г.

Рецензент:



доц. д-р Любомира Николаева-Гломб