

**НА ВНИМАНИЕТО НА ЧЛЕНОВЕТЕ
НА НАУЧНОТО ЖУРИ, ОПРЕДЕЛЕНО
СЪС ЗАПОВЕД N P-109-18/28.01.2019 г. НА
РЕКТОРА НА МЕДИЦИНСКИ
УНИВЕСИТЕТ „ПРОФ.Д-Р ПАРАСКЕВ
СТОЯНОВ“, г. ВАРНА**

РЕЦЕНЗИЯ

от Проф. д-р Радка Младенова Аргирова, дмн, вирусолог, Аджъбадем
Сити Клиник Болница „Токуда“ - София, сектор „Имунология и
молекулярна диагностика“

ОТНОСНО: Дисертационния труд на Деница Тодорова Цанева-Дамянова , докторант на самостоятелна подготовка за присъждане на образователна и научна степен „доктор“ в област на висше образование: 4. „Природни науки, математика и информатика“, направление 4.3. „Биология, научна специалност „вирусология“

ТЕМА: Клинико-лабораторно проучване върху разпространението на вирусни хепатити В и D в обща популация и при пациенти с хронични чернодробни заболявания в Североизточна България. Продължителност на HBV поствакциналния имунен отговор при ваксинирани лица

НАУЧЕН РЪКОВОДИТЕЛ: Доц. Д-р Лилия Иванова, д.м.

Предложеният ми за рецензиране труд е написан на 221 стр., онагледен е с 47 фигури и 95 таблици, цитирани са 567 литературни източника, от които – 29 на кирилица и 538 – на латиница. Трудът е организиран съгласно общоприетите стандарти и съдържа Увод, Литературен обзор, Цел и задачи, Резултати и обсъждане, Заключение, Изводи, препоръки и приноси, кратко резюме, използвани литературни източници, Приложения - авторска справка за публикации и участия в научни прояви по темата на дисертационния труд, участия в научни проекти. Приложен е и автореферат на дисертационния труд.

Деница Тодорова Цанева-Дамянова е родена през 1983 г. Завършила е природо-математическа гимназия „Акад. Методий Попов“ – профил „биология“ с разширено изучаване на английски език , както и Пета Гимназия с преподаване на чужди езици “Йоан Екзарх“-Варна – отлична предпоставка за бъдещата ѝ научно-изследователска дейност. Има

задоволителни познания по френски и немски език, с които си служи достатъчно добре. Магистър по медицина от 2007 г. – представя диплома от МУ „Проф. Д-р Параскев Стоянов“ – Варна. Има придобита специалност по вирусология през 2012 г. През 2016 г. е зачислена като докторант на самостоятелна подготовка с темата, представена днес за защита. Успешно издържа докторантски минимум по вирусология през 2017 г.

Дисертационният труд на д-р Деница Тодорова Цанева-Дамянова е посветен на важна съвременна и въпреки многобройните изследвания актуална тема – инфекцията с вирусните хепатити В и D в Североизточна България като част от хепатитните вирусни инфекции у нас. Заглавието на дисертационния труд подсказва и друга интересна подробност по темата – продължителността на поствакциналния имунен отговор при лица, ваксинирани с HBV. Още тук подчертавам, че последната цитирана част от изследването рядко е обект на изучаване в годините след въвеждане на HBV ваксината /1991/ у нас. Актуалността на дисертационния труд се обуславя още и от широкото разпространение на HBV у нас, разнообразните форми на протичане на инфекцията, особено на хроничните форми, трудности при лечението ѝ, тежки и прогресиращи усложнения, водещи вкл. и до фатален изход. Всичко това се наблюдава у неваксинирани лица, а у ваксинирани въпреки задължителната ваксина все още не е напълно ясна продължителността на ефективния имунен отговор. По отношение на HBV инфекцията България доста дълго „преседя“ в списъка на страните с „висока“ HBV-ендемичност, докато няколко години бяха необходими на няколко екипа у нас /вкл. и на екипа от МУ – Варна/ да промени това заключение на СЗО и да дефинира страната като „интермедиерна“ по ендемичност за тази инфекция, но с подчертани различия за отделните области. **В това отношение Североизточна България попада в зоната на „висока средна ендемичност“ – и това е сериозен и актуален принос и на настоящия дисертационен труд.** Освен това, кръвният и половият път на предаване на HBV са причина за често откриване на ко-инфекция HIV + HBV – ситуация, усложняваща протичането и лечението и на двете инфекции, както и нарочното им търсене в рискови групи на лица, инжекционно употребяващи наркотици и мъже, правещи секс с мъже (MSM). Сред тези две важни рискови групи има както сходство, така и различия в трансмисията на HBV, но те са и различия в социално-комуникационно отношение и достъп до програмите за превенция и лечение – особено с АРТ. Особена ценност на дисертационния труд в това отношение е, че анализът на маркерите на HBV се прави на фона на ниско разпространение на HIV инфекцията у нас, вкл. в Североизточна България, което е до известна степен гаранция, че е възможно и се обмисля как да не се допуска последващото разпространение и на двете инфекции – поне в указаните трансмисионни групи. С тези няколко думи декларирам актуалността на представеното изследване, при това не само за Североизточна България, но и за страната като цяло. Ценно е също така, че данните в него могат успешно да се сравнят и съпоставят с тези от предишни изследвания и така да се очертаят достоверни тенденции.

Докторантката демонстрира знания и разбиране за морфологията и репликацията на HBV. Литературният обзор е много богат – с най-съвременни данни и автори, вкл. български, за известните към момента на оформяне на дисертационния труд отношения между генотипния анализ, диагностиката и прогреса на инфекцията, повлияването от терапията, възникването на лекарствена резистентност, вирусната трансмисия. При това, обзорът е много богат по отношение и на двата хепатитни агента – HBV и HDV. Въпреки това, намирам и някои празноти в литературния обзор. Например не е ясно подчертано, че

неотдавна откритият рецептор NTCP е общ за HBV и HDV . Нещо повече, в NTCP съществува мутация - S267F, която не подкрепя HBV инфекцията в клетъчна култура, а на популационно равнище обуславя /частична/ резистентност към инфекция с HBV; асоциира се с непрогресиране към цироза и НСС у пациенти с хронична HBV инфекция. Синтезиран е липопептид – Myrcludex B, сходен на HBV L-протеина - всъщност само с една аминокиселинна замяна в консервативното рецептор-свързващо място, с което се „унищожава“ хепатотропизма на вируса. Всъщност, открива се нов механизъм /по подобие на HIV-инфекцията/ за отрицателно въздействие на навлизането на вируса още на ниво адсорбция. Също така, не е споменато, че DNA Polymerase е ключов клетъчен фактор за формирането на CCC /Covalently Closed Circular/ DNA of HBV и това е най-новата мишена за терапия. Дори съществува вече кит за количествено измерване на CCC , на което се възлагат големи надежди за откриване на още по-значими връзки между генотипа на HBV и възможностите за терапевтично повлияване. Изказаните съображения ни най-малко не намаляват стойността на литературния обзор, просто биха го разширили и обогатили.

Целта и задачите са ясно, пълно и добре формулирани, нямам забележки по тях, освен, че са описани /нестандартно/ по-подробно от общоприетото, но това е избор на автора на дисертационния труд. Важното е, че напълно съответстват на целите на изследването. Още в описанието на задачите виждаме и нарочно търсене на OBI – окултна HBV инфекция – в такъв обем такава задача се поставя за първи път у нас. Към задачите са посочени и хипотези, както и антитеза на проучването.

В раздела „Материал и методи“ са описани изчерпателно изследваните пациенти за целите на ретроспективния и проспективния анализ. За периода 09.2010 – 10.2018 са изследвани общо 13922 проби от групите „обща популация“ /ретроспективно, разделени в 4 групи/ и „болни с хронични чернодробни заболявания“ /проспективно, разделени в 2 групи/ . Този раздел е високо информативен, съвременен, убеждава, че използваните подходи и методи са надеждни и резултатите, получени чрез тях, ще бъдат надеждни и достоверни. Освен това, именно тук се вижда личното участие, както и усвояването от докторанта на използваните методи и интерпретацията им. Към този раздел нямам въпроси и забележки.

Резултати и обсъждане – е най-важният раздел в дисертационния труд. Получените резултати са разгледани по вече описаните групи – всяка поотделно, със собствено обсъждане и заключения. Одобрявам този начин на представяне поради многообразието на засегнатите групи, механизми и патогенеза на трансмисия. Много ясно и точно се вижда на Табл. 2,3,4,5 разпределението на изследваните лица по повод на изследване, пол, възраст и открити различни маркери на HBV инфекцията. Според обобщените данни, България попада в зоната на средната ендемичност – 2,8% средно относителен дял на носителство на HBs Ag при ясно очертана благоприятна тенденция към намаляване на тази цифра за сметка на броя носители на HBs Ag при бременните и донорите на кръв. Възрастовата група 20 – 49 г. е най-податлива на инфекцията, което се отнася изключително за мъжете. По отношение на HBc total ясно се очертава тенденция към повишаване на относителния дял на позитивните лица с напредване на възрастта, тази тенденция се отнася не само за Югоизточна Европа, но и за света. При изследване на носителство на HBs Ab ясно превалят /но без да се открива статистически значима разлика/ положителните резултати при жените – 57,2% срещу 42,8% за мъжете. Изследванията за откриване на лица с профили

HBs Ag/HBs Ab показват доминиране на профила HBe Ab, фаза, дефинирана като «неактивно HBV носителство». Тази фаза продължава да е обект на многобройни изследвания.

Следващият раздел на дисертационния труд разглежда връзката между HBV и HDV при пациенти с хронични чернодробни заболявания – общо 1056 случая в ретроспективното и проспективното изследване. Изследвани са всички маркери на HBV и HDV. Относителният дял на HBs Ag позитивните пациенти в тази група е 23,6 % срещу 2,8% в общата популация /Табл.27/, подобни са и резултатите за останалите маркери в тази група. Данните в настоящия труд показват, че при 16,6% от пациентите с хронично чернодробно заболяване има етиологична връзка HBV/HDV, а при 96,9% от тях се открива вирусна РНК. Важна е и откритата /макар и слаба/ обратно-пропорционална зависимост между нивата на HBV DNA и HDV RNA в около 50% от изследваните пациенти. **Всички данни и изводи в този раздел са нови за България и имат приносен характер, тъй като досега такива подробни клиничко-епидемиологични изследвания в нашата литература не са представяни.**

Особено място в настоящия труд заема дефинирането на относителния дял на окултно HBV носителство в Североизточна България. **Такъв тип системно и насочено изследване се прави за първи път у нас и отново ще подчертая, че всички данни от този раздел са с приносен характер, още повече, че вече стана ясно, че HBs total при пациентите с хронични чернодробни заболявания е 52,6% срещу 44,2% сред общото население, а изолиран HBs total се открива в 23,6% от пациенти с данни за чернодробна дисфункция срещу 8,25% в лица от общата популация.** Диагностицирането на OBI е особено важно поради 2 главни причини – повлиявяването на хода и прогресирането на хроничното чернодробно заболяване и възможността за кръвно предаване на инфекцията при кръвопреливане, трансплантация и др.п. Хубавото е, че тестиране за HBs total все по-често се назначава и търси и сред общата популация, вкл. и у нас.

Ваксинацията срещу HBV е неотменна част от глобалния имунизационен календар и са вече достатъчно добре установени ползите от нея. Проучванията върху продължителността на ефективния имунен отговор след ваксинация показва, че 60,7% от ваксинираните лица /като новородени/ след 15-годишна възраст вече нямат необходимата за протекция концентрация на неутрализиращи антитела. Напълно убедително звучи препоръката на авторката за бустерна имунизация след 15-год. възраст, както и препоръката за изследване на HBs Ab още след първата игла у лица, подложени се на имунизация, особено ако на тези лица предстои работа с биологични материали или инвазивни действия и манипулации. **Изследванията върху продължителността на имунния отговор след ваксинация срещу HBV в такъв обем са първи у нас и вероятно ще станат повод за разширяването им – например колко е продължителността на отговора при HIV+ лица, при това не само на HBV ваксината, но и на други ваксини.**

Общите заключения и изводи от ретроспективното и проспективното проучване дават ценна информация не само за Североизточна България, но те могат да се считат значими за цялата страна. Очертават се важни тенденции:

1.Трайна тенденция на спад в относителния дял на носителите на HBs Ag, особено на тези до 20-год. възраст - резултат от ефективността на ваксината срещу HBV.

2. Двойната инфекция HBV/HDV протича по-тежко в сравнение с моноинфекцията само с HBV, като нивата на HBV DNA и HDV RNA показват обратно-пропорционална корелация при 50% от пациентите.
3. Дефиниран е относителният дял на окултната инфекция с вируса на хепатит В в общата популация на Североизточна България – 8,25%. Препоръчва се активно търсене на маркера HBs total при хронични чернодробни заболявания, преди трансплантация и сред общото население.
4. Изследванията на продължителността на ефективната имунна защита след ваксинация срещу HBV показват необходимостта от бустерна доза след 15-год. възраст на ваксинираните като новородени.

С изводите и приносите съм съгласна, ценно е, че повечето от тях потвърждават предшестващи резултати за по-малки периоди от време – т.е. тенденциите се потвърждават. С тази дисертация, богата на собствени изследвания и резултати данни, се потвърждава дългогодишния опит на Катедрата по микробиология и вирусология към МУ-Варна в най-съвременно профилактиране, диагностициране, проследяване и лечение на инфекциите с хепатитни вируси, в частност – HBV. Този труд показва и отличната връзка на Катедрата по микробиология и вирусология в МУ – Варна с клиничните звена в Университета, а без тази връзка подобна работа не би била възможна.

Фигурите и таблиците са отлично изпълнени и носят информация за резултатите от изследването. Списъкът на литературните източници е пълен, съвременен и допълнително говори за познаване на съвременните знания за инфекцията. Статистическата обработка на данните е безупречна.

Авторефератът отразява основните изследвания, изводите и заключенията от дисертационния труд.

Д-р Деница Тодорова Цанева-Дамянова е първи автор на 3 статии на английски език по темата. Участник и докладчик е в 5 научни форуми – 1 от тях в чужбина, както и в 1 научен проект по темата, финансиран от Фонд „Наука“ на МУ – Варна.

В заключение, дисертационният труд на Д-р Деница Тодорова Цанева-Дамянова разработва важни въпроси на клиничната вирусология на хепатит В вирусната инфекция. Получените резултати са до голяма степен нови или с потвърдителен характер относно съществуващи тенденции и допълнителни данни за разпространението на вируса не само в Североизточна, но и в цяла България. За първи път са представени конкретни серологични и молекулярно-биологични данни относно окултната HBV инфекция, охарактеризирана е двойната HBV/HDV инфекция в зависимост от това дали е ко- или супер-инфекция, направени са ценни практически препоръки, валидни за редуциране на епидемичното разпространение на HBV у нас. Считаю, че работата е продължение на дългогодишната научно-изследователска последователна дейност на Катедрата по микробиология и вирусология към МУ – Варна. Уверена съм, че основните насоки на тази работа ще продължат, тенденциите, очертани от Д-р Деница Тодорова Цанева-Дамянова ще се изясняват и обогатят с нови факти. Дисертационният труд ще послужи за актуализиране на епидемиологичните и молекулярно-вирусологичните данни за разпространението на HBV

у нас. В този смисъл дисертационният труд на Д-р Деница Тодорова Цанева-Дамянова заслужава най-висока оценка, а авторът му – напълно заслужава да придобие научната и образователна степен „доктор“, за което призовавам и останалите членове на уважаемото научно жури.

София, 16.02.2019 г.

Рецензент:

/Проф. Д.м.н. Радка Аргирова/

