

РЕЦЕНЗИЯ

От проф. д-р Илия Николов Илиев

Катедра „Биохимия и микробиология”, Биологически факултет, Пловдивски университет „Паисий Хилендарски”, Пловдив, ул. „Цар Асен“ №24, България

на дисертационен труд за присъждане на образователната и научна степен
'доктор'

Професионално направление: *Биологически науки* Докторска програма по *биохимия*

Автор: *Галя Михайлова Михайлова*

Форма на докторантурата: редовна форма на обучение

Катедра: „Биохимия, молекулярна медицина и нутригеномика”, МУ „Проф. д-р Параскев Стоянов“ - Варна

Тема: „СКРИНИНГ И ФУНКЦИОНАЛЕН АНАЛИЗ НА НОВИ АНТИ-КОМПЛЕМЕНТНИ АВТОАНТИТЕЛА В ХОДА НА СИСТЕМЕН ЛУПУС ЕРИТЕМАТОДЕС ”

Научен ръководител: доц. Мария Атанасова Раданова, д.б.

Научен консултант: д-р Васил Венциславов Василев, д.м.

1. Общо представяне на процедурата и докторанта

Представеният комплект материали на хартиен /електронен носител е в съответствие с Процедурата за придобиване на ОНС „доктор“ в МУ – Варна; Правилник за Развитие на Академичния състав на МУ – Варна от 2018г. и включва следните документи:

- заявление до Ректора на МУ-Варна за разкриване на процедурата за защита на дисертационен труд
- автобиография в европейски формат с подпис на докторанта
- копие от диплома за висше образование
- заповеди за зачисляване в докторантура
- заповед за отчисляване с право на защита
- заповед за провеждане на изпит от индивидуалния план и съответен протокол за издържан докторантски минимум по специалността

- протокол от катедрен съвет за предварително обсъждане на дисертационния труд и взетите решения за разкриване на процедура и за състав на научно жури
- дисертационен труд
- автореферат
- списък на научните публикации по темата на дисертацията
- копия на научните публикации
- списък на участията в научни форуми
- сертификат за кредити от обучението по груповия учебен план
- декларация за оригиналност и достоверност на приложените документи.

Докторантката е приложила в пълен текст 3 научни публикации, една от които в списания с импакт фактор 3,532 и материали от шест участия в научни форуми.

Документите са представени според изискванията на Правилника на МУ-Варна. Докторант Галя Михайлова Михайлова е родена на 26.10.1990г. От 2009г. до 2013г. е студентка в ПУ „Паисий Хилендарски“ и получава бакалавърска степен по биология. През 2015г. завършва магистърска програма „Биофармацевтична биохимия“ и получава диплом за магистър по биофармацевтична биохимия – приложна биохимия от ПУ „Паисий Хилендарски“. От септември 2016г. е специализант по биохимия в катедра „Биохимия, молекулна медицина и нутригеномика“, МУ – Варна. Със заповед Р-100-1218/19.12.2017г е зачислена в докторантура в редовна форма на обучение към „Биохимия, молекулна медицина и нутригеномика“, МУ „Проф. д-р Параскев Стоянов“ – Варна. Със заповед Р-109-253/20.07.2020г. докторант Галя Михайлова е отчислена с право на защита.

2. Актуалност на тематиката в дисертационния труд

Предлаганият дисертационен труд е по актуална тематика в областта биохимични и имунологични изследвания върху ролята на автоимунния отговор и загубата на имуноен толеранс към собствени протеини при системния лупус еритематодес (СЛЕ). Заболяването се характеризира с широкоспектърни органични прояви, множество автоантитела и многофакторна имунологична патогенеза. Лупусният нефрит (ЛН) е една от най-сериозните, значими и чести прояви на СЛЕ. При 25% – 50% от случайно подбрани пациенти със СЛЕ се установяват клинично-лабораторни данни за лупусен нефрит (ЛН) към момента на поставянето на СЛЕ като диагноза, а около 60% от възрастните пациенти със СЛЕ развиват нефропатия по-късно в хода на автоимунното заболяване.

Изследването попада изцяло в обхвата на приоритетно направление № 2

стратегия. Най-добре проучените автоантитела, които имат патогенетична роля за развитието на СЛЕ и главно на ЛН са анти-C1q антителата, като други автоантитела срещу компоненти на комплементната система, описвани при СЛЕ и ЛН не са достатъчно проучени и тяхното патогенетично и клинично значение на този етап не е напълно изяснено.

Научните изследвания, които провежда докторантката са в областта на търсене на нови анти-комплементни антитела в ЛН пациенти и изучаване на функционалната им активност.

3. Познаване на проблема

В литературния обзор докторантката предоставя актуална информация по темата на дисертацията като отначало разглежда подробно трите пътя на активиране на комплементната система – класически, лектинов и алтернативен, както и видовете регулация на комплементната система. В следващия раздел авторката дава подробна информация за етиологията на заболяването системен лупус еритематодес като мултиорганно аутоимунно заболяване и връзката му със системата на комплемента. В последния раздел докторант Михайлова подробно разглежда ролята на автотелата срещу компоненти на системата на комплемента при лупусен нефрит, като обосновава необходимостта да се проведат нови изследвания за установяване възможността някои автоантитела да се използват при ранно диагностициране на лупусен нефрит. Докторантката завършва литературния обзор с обосновка за избора на насоката на своите изследвания в търсене на нови анти-комплементни антитела при пациенти с лупусен нефрит.

Литературният обзор е написан на стегнат научен стил на 20 страници и илюстриран подходящо с една фигура и една таблица, като използваната литература е описана на 10 страници в края на дисертацията. Докторантката е използвала 217 автора, от които 3 на кирилица и всички останали на латиница.

Докторант Галя Михайлова формулира много ясна цел на своето изследване, а именно „да се установи наличие и да се характеризира функционалната активност на нови автоантитела срещу компоненти и регулатори на системата на комплемента при пациенти с лупусен нефрит“. За постигането на целта докторантката е формулирала 5 задачи в логична последователност.

4. Методика на изследването

В раздел „Материали и методи“ на 18 страници са описани основните методи, които са прилагани при изпълнението на поставените задачи в настоящото изследване. По време на разработването на настоящия научен труд докторантката е усвоила голям брой съвременни биохимични, ензимопогични,

имунологични и имуно-ензимни методи, които гарантират доказателствената стойност на получените резултати. Умелият подбор на методите ми дава основание да считам, че тя е придобила необходимия методичен опит при извеждане на научен експеримент.

5. Характеристика и оценка на дисертационния труд и приносите

Предложеният дисертационен труд е оформен по стандартен за България модел, написан е на 136 стандартни машинописни страници и съдържа следните основни глави: Съдържание – 3стр., Използвани съкращения – 1 стр., Увод – 1 стр., Литературен обзор – 20 стр., Цел и задачи – 1 стр., Материали и методи – 18 стр., Резултати – 61 стр., Обсъждане – 8 стр., Заключение – 2 стр., Изводи – 2 стр., Приноси – 2 стр., Публикации и участия в научни форуми във връзка с дисертацията – 2 стр., Използвана литература – 10 стр. Допълнително към официалните 136 стр. е добавено в Приложение – 15 стр. с документи, свързани с регулиране на работата с пациенти. Резултатите са онагледени с 53 фигури и 6 таблици.

Съвсем логично авторката стартира с общ скрининг на пациенти с ЛН и доброволци за наличие на автоантитела срещу компонентите на комплемента C1q, C1s, C1r, C2, C3, C4, Фактор В, C5, C6, C7, C8 и C9, срещу активационните фрагменти C4b и C3b, както и срещу регулатори на комплементната каскада C1 инхибитор, фактор Р (пропердин), фактор Н и фактор I. В първата част от своите изследвания докторантката е провела скринингова програма, включваща няколко скрининга: 1. Скрининг за автоантитела срещу ранните компоненти на комплемента C1q, C1s, C1r, C2, C3 и C4, както и срещу активационните фрагменти C4b и C3b; 2. Скрининг за автоантитела срещу късните компоненти на комплемента C5, C6, C7, C8 и C9; 3. Скрининг за автоантитела срещу регулатори на комплементната каскада C1 инхибитор, фактор В, фактор Н, фактор I и фактор Р.

Във втората част от своето изследване Галя Михайлова е провела анализ на отношенията между нивата на известни биомаркери за оценка на активността на лупусната нефропатия и нивата на новооткрити анти-комплементни автоантитела. Анализите следват последователността: 1. Анализ на отношенията между нивата на биомаркери за оценка на активността на ЛН и нивата на анти-фактор Н автоантитела – по пол, възраст и продължителност на заболяването; спрямо основни клиничко-лабораторни показатели на ЛН; спрямо основни имунобиомаркери на ЛН; спрямо основни хистологични признаци на ЛН; 2. Анализ на отношенията между нивата на биомаркери за оценка на активността на

ЛН и нивата на анти-фактор Р автоантитела – също по пол, възраст и продължителност на заболяването; спрямо основни клинично-лабораторни показатели на ЛН; спрямо основни имунобиомаркери на ЛН; спрямо основни хистологични признаци на ЛН; и спрямо комплексната оценка на ЛН по BILAG Renal score.

В третата част на дисертацията авторката описва данните от проследяването на промените в нивата на новооткритите анти-комплементни автоантитела в хода на заболяването. В четвъртата глава Галя Михайлова предоставя данни за ефектите на анти-комплементните антитела върху физиологични взаимодействия на прицелните им молекули с техните естествени лиганди. Научните изследвания завършват с теоритично предсказване на епитопи на някои от установените анти-комплементни автоантитела.

В специално отделена глава „Обсъждане“ докторант Галя Михайлова прави съпоставка между известните данни в литературата и получените от нея резултати. Авторката специално обръща внимание на честотата на анти-C1q, която е доказана само при 19% от българската кохорта с ЛН. Допълнително е проверена специфичността на анти-C1r и анти- -C1s автоантителата е намерена слаба, но значима корелация с С3, анти-dsDNA, АНА. Докторантката е установила, че анти-C1s и анти-C1r антителата не повлияват формирането на C1 комплекса, докато анти-C1q антителата вероятно инхибират физиологичната роля на C1q и пречат на образуването му. Интерес представлява установената корелация на умерено и значимо ниво между анти-фактор Н антителата с титрите на АНА, нивата на С3 и анти-dsDNA, както и с активния уринен седимент.

В своето заключение докторантката декларира, че анти-фактор Н и анти-фактор Р автоантителата се обвързват с активната фаза на заболяването, а анти-фактор Р автоантителата имат функционални последствия при ЛН пациенти от българската популация.

Докторантката формулира единадесет основни извода, разпределени в три групи. Информацията в тях правилно отразява получените резултати и тяхното тълкуване. Би било добре за по-голяма конкретика в изводите да се включат точни данни от експерименталната работа, което ще оформи по-добре значимостта на проведеното изследване. Авторката е оформила приносите от проведеното изследване, които е разделила на три категории – с оригинални, с потвърдителен характер, с които по принцип съм съгласен.

6. Преценка на публикациите и личния принос на докторанта

Резултатите от дисертацията са публикувани в три научни публикации, една от които в списания с импакт фактор – 3,532, което е атестат за значимостта на получените резултати. За приноса на докторантката по разработваната тема говори факта, че е първи автор в една от публикациите. Резултатите от дисертацията са представени и на шест научни форума, което допълнително доказва личния принос на докторант Михайлова при провеждане на експерименталната работа, анализа на резултатите и представянето им.

Към докторантката нямам въпроси.

Познавам докторантката като нейн преподавател както в бакалавърска, така и в магистърска степен на обучение и с удовлетворение мога да кажа, че тя израства като прецизен изследовател. По време на своето обучение е разработила дипломни работи по тематика на катедрата. Нейната прецизна изследователска работа е оценена с включване като съавтор на статия, публикувана в списание с импакт фактор Journal of Basic Microbiology.

7. Автореферат

Авторефератът отговаря напълно на целите, задачите и постигнатите резултати в дисертационния труд.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Оценката ми за дисертационния труд, автореферата, научните публикации и научните приноси на докторант Галя Михайлова Михайлова е изцяло положителна. Бих искал да отбележа още веднаж достойнствата ѝ – на първо място една мащабна по размер изследователска работа, включваща работа с 104 пациента, базирана на използване на съвременни научни методи, съдържаща голямо количество резултати, коректно и задълбочено анализирани и правилно интерпретирани и обобщени. Резултатите от дисертацията биха могли да се използват при по-нататъшни търсения на нови имунобиомаркери за прецизна диагностика на лупусен нефрит.

Представената дисертация напълно отговаря на изискванията на ЗРАСРБ, Правилника за неговото прилагане и Правилника на Медицинския университет - Варна. Представените материали и дисертационни резултати напълно

съответстват на специфичните изисквания, приети във връзка с Правилника на МУ – Варна за приложение на ЗРАСРБ.. Постигнатите резултати ми дават основание да предложа да бъде присъдена образователна и научна степен „доктор” на **Галя Михайлова Михайлова** по област на висше образование: 4. Природни науки, математика и информатика; професионално направление: 4.3. Биологични науки; научна специалност: Биохимия.

29.09.2020г.
Пловдив

Изготвил:
(проф. д-р Илия Илиев)

