

## СТАНОВИЩЕ

от доц. Мария Атанасова Раданова, д.б.,

Катедра по биохимия, молекулна медицина и нутригеномика, Факултет по фармация,  
Медицински университет „Проф. д-р Параскев Стоянов“ – Варна

*Относно:* Защита на дисертационен труд на тема: *„Скрининг и функционален анализ на нови анти-комплементни автоантитела в хода на системен лупус еритематодес“* от ас. **Галя Михайлова Михайлова**, редовен докторант в Катедрата по биохимия, молекулна медицина и нутригеномика, Факултет по фармация, Медицински университет „Проф. д-р Параскев Стоянов“ – Варна, за присъждане на образователната и научна степен „Доктор“ по научната специалност „Биохимия“ в област на висше образование 4. Природни науки, математика и информатика, професионално направление 4.3. Биологически науки

Съгласно Заповед на Ректора на МУ – Варна № Р-109-253/20.07.2020 г. съм включена, в качеството си на ръководител на докторантката в Научно жури по процедурата съгласно ЗРАСРБ и ППЗРАСРБ за присъждане на ОНС „Доктор“.

### *Процедура*

Ас. Галя Михайлова Михайлова е зачислена като редовен докторант в докторска програма „Биохимия“ в Катедрата по биохимия, молекулна медицина и нутригеномика, при МУ-Варна със Заповед № Р-109-465/29.12.2017 г. Положила е успешно изпит за докторантски минимум на 20.02.2019 г. На основание решение на Катедрения съвет относно готовността за защита (Протокол № 15/13.07.2020 г.), Доклад от доц. Киселова-Кънева, д.б., Ръководител Катедра по биохимия, молекулна медицина и нутригеномика (Доклад № 102-1683/13.07.2020 г.) и решение на Факултетния съвет на Факултет „Фармация“ при МУ-Варна (Протокол № 3/13.07.2020 г.) е отчислена с право на защита със Заповед на Ректора № Р-109-253/20.07.2020 г. Изискванията на ЗРАСРБ и ППЗРАСРБ и ПРАС на МУ – Варна за присъждане на ОНС „Доктор“ са спазени, представените документи са в пълен състав и изготвени коректно.

### *Актуалност на темата на дисертационния труд*

Ролята на автоимунитета и загубата на имунен толеранс към собствени протеини, имат съществено място в настоящите представи за етиологията и патогенезата на системния лупус еритематодес (СЛЕ). Заболяването се характеризира с широкоспектърни органични прояви, множество автоантитела и многофакторна имунологична патогенеза. Лупусната нефропатия е една от най-сериозните, значими и чести прояви на СЛЕ. За пациентите с

лупусен нефрит са характерни по-висока заболяемост и смъртност в сравнение със СЛЕ пациентите без бъбречно засягане. Лупусният нефрит дава отражение върху качеството на живот на пациентите и прогнозата на СЛЕ. Лечението почти винаги е продължително, сравнително често е свързано с множество нежелани последствия за пациента и неговите близки и има значими финансови измерения. Предвид тежестта на лупусния нефрит, който често води до развитие на бъбречна недостатъчност, и определя дългосрочната прогноза при пациентите, през последните години усилено се търсят биомаркери за ранна диагностика, за по-точна оценка на активността на заболяването, степента на неговата тежест и отговора на терапията. Най-важните анти-комплементни автоантитела, които имат патогенетична роля за развитието на СЛЕ и главно на лупусния нефрит са анти-C1q антителата. Други автоантитела срещу компоненти на комплементната система, описвани при СЛЕ и лупусен нефрит не са достатъчно проучени и тяхното патогенетично и клинично значение на този етап не е напълно изяснено. В тази връзка, темата на дисертационния труд на ас. Михайлова насочен към търсене на нови анти-комплементни автоантитела и изследване на тяхната функционална активност в условията на лупусен нефрит оценявам като актуална и важна в научно и клинично отношение.

#### *Характеристика и оценка на дисертационния труд*

Представеният дисертационен труд отговаря на изискванията от ЗРАСРБ и ПРАС на МУ – Варна и е структуриран по общоприетата схема. Съдържа 136 стандартни машинописни страници, онагледен е с 54 фигури и 7 таблици. Библиографията съдържа 217 литературни източника. Отделните раздели в дисертацията са добре балансирани като обем с изключение на раздела „Обсъждане“, който е представен в 9 стр. Това може да се обясни с малкото на брой научни изследвания в областта, за наличие на нови анти-комплементни автоантитела, което поражда проблем при дискусията на собствени резултати в контекста на изследванията на други научни екипи.

Литературният обзор е структуриран логично като първо се разглеждат трите пътя за активиране и регулация на комплементната система, а след това ролята на комплемента в патогенезата на системния лупус еритематодес. Проследени са изследвания за наличие на анти-комплементни автоантитела при пациенти с лупусен нефрит. Наличието на малко на брой изследвания върху патогенетичната роля на анти-комплементните автоантитела при пациенти с лупусен нефрит, както наскоро доказаното участие на алтернативния комплементен път в патогенезата на заболяването определят интереса към темата на дисертационния труд. В тази връзка докторантката въвежда обосновано целта на изследванията си - търсене на нови анти-комплементни антитела в пациенти с лупусен нефрит и изучаване на функционалната им значимост. Целта на изследването е формулирана ясно. Задачите, които си е поставила докторантката са конкретно дефинирани и пряко свързани с целта.

При разработването на дисертационния труд са използвани съвременни биохимични методи. Реализирането на поставените задачи е осъществено от една страна благодарение на добрата обезпеченост с апаратура в Катедрата по биохимия, молекулна медицина и

нутригеномика и от друга – благодарение на сътрудничество с екипа на доц. Любка Руменина от Cordeliers Research Centre, Париж, Франция. Изследванията са получили одобрение от Комисията по етика на научните изследвания към МУ – Варна (Протокол 62/04.05.2017 г. и Протокол 83/16.05.2019 г.) и са финансирани в рамките на два научноизследователски проекта: първият, финансиран от Фонд „Научни изследвания“, МОН, Конкурс за двустранно сътрудничество 2016 г. – България – Франция с договор № ДНТС/Франция 01/11, 09.05.2017 г., и вторият, финансиран от фонд „Наука“, Медицински университет „Проф. д-р Параскев Стоянов“, Варна с договор № ФН-14/11.02.2019.

Получените резултати са обработени и представени графично чрез съвременни методи и програми за статистически анализ, което определя тяхната значимост и достоверност.

Основните резултати в дисертационният труд са свързани с установяване на наличието на анти-комплементни автоантитела срещу два от регулаторите на системата на комплемента – анти-фактор Н и анти-фактор Р в корохтно изследване на пациенти с лупусен нефрит и изясняване на клиничното им значение. Установено е, че наличието на анти-фактор Н антителата са свързани с нивата на някои клинично-лабораторни, имунологични и хистологични маркери за оценка на активността и хроничността на лупусния нефрит, а именно с нивата на активния уринен седимент, на антинуклеарни антитела – АНА, на анти-dsDNA, на С3, с наличие на ендокапиллярната пролиферация и с хистологичния индекс на активност. За анти-фактор Р антителата са доказани асоциации с титрите на АНА, нивата на анти-dsDNA и с С3 и С4 хипокомплементемии. Установено е, че нивата на анти-фактор Р антителата са по-високи при пациенти с хистологични белези на активност и хроничност на лупусния нефрит, но са оценени като несъществен признак при отразяването на хистологична активност и хроничност. Доказана е обаче висока негативна предиктивна стойност (NPV) на комбинацията на анти-фактор Р с анти-dsDNA, което предполага, че пациентите, които са негативни и за двата показателя няма да развият тежка форма на заболяването. Проведени са редица функционални тестове за изясняване на патогенетичната роля на анти-фактор Р антителата, което придава на работата задълбочен характер. Проследени са възможни влияния на антителата върху формирането на С3 конвертазата на алтернативния път и върху опсонизацията на комплемента върху късни апоптотични клетки. Показано е, че анти-фактор Р антителата допринасят за комплементната свръхактивация но само в единични пациенти, което оценява функционалните последици от тези автоантитела в патогенезата на заболяването по-скоро като слаби. Теоретичното предсказване и визуализиране на възможни епитопи за анти-фактор Р антителата са оригинална и информативна част от резултатите на дисертационния труд.

Съществен дял от резултатите е отделен на продължаващи изследвания на научния екип, чийто член е ас. Михайлова. Изследвана е специфичността на анти-С1г и анти-С1s автоантителата, тяхното клинично и патогенетично значение. Установено е, че при пациентите анти-С3 и анти-С4 могат да съществуват като независими антитела и като

кръстосанореагиращи. Осъществена е теоретичната предикция и визуализация на 4 потенциални епитопи с висока хомология между С3 и С4.

Изводите в дисертационния труд произтичат логично от постигнатите резултати и обобщават най-същественото от проведените анализи.

Приносите са разделени на приноси с оригинален и потвърдителен характер. Най-същественият принос на дисертационния труд са проведените за първи път обстоятелни изследвания върху анти-фактор Р антителата в пациенти с лупусен нефрит, като получените резултатите са публикувани в международно списание с Q2 ранг.

### ***Публикации по темата на дисертацията***

Представените публикации във връзка с дисертацията са три, като в една от тях ас. Михайлова е първи, а в останалите – втори автор. Една от статиите е публикувана в *Clinical and Experimental Immunology*, международното списание с импакт фактор 3.532 и ранг Q2. Понастоящем са подадени и още два пълнотекстови ръкописа, включващи оригинални резултати от дисертационния труд, в които ас. Михайлова е първи и водещ автор. Това показва личния принос на докторанта в провеждането на изследванията, анализирането на получените резултатите и в изготвянето на ръкописите на научните статии. Резултатите от дисертационния труд са представени на 6 научни форума в страната и чужбина, като във всичките ас. Михайлова е първи презентиращ автор.

### ***Автореферат***

Автореферат е изготвен съгласно изискванията и точно отразява представените основните резултати и съдържанието на дисертационния труд.

### ***Лични впечатления***

Впечатленията ми от работата на ас. Михайлова като нейн ръководител са за прецизен, задълбочен и мислещ млад човек, с индивидуален подход и оригинално мислене към възникнали проблеми в експерименталната работа. В хода на обучението си ас. Михайлова разви много бързо възможностите си да обобщава научна информация, да прави изводи и изготвя самостоятелно научни публикации. Трябва да се отбележи, че ас. Михайлова успя да осъществи планираните по дисертацията си задачи, да оформи труда си и да публикува за 2 год. и половина от предвидените 3 год. за обучение в редовна докторантура. Оценявам ас. Михайлова като отговорна и мотивирана за научно развитие с умения за работа в екип.

### *Заклучение*

В заключение смятам, че дисертационният труд на ас. Галя Михайлова Михайлова представлява завършена работа с много добро научно качество. Дисертационният труд напълно отговаря на изискванията за съответната научна степен, формулирани от ЗРАСРБ и Правилника за прилагането му в Медицински университет - Варна. Изразявам положително становище и препоръчвам на уважаемите членове на Научното жури да присъдят на ас. Галя Михайлова Михайлова образователната и научна степен „Доктор“ по специалност „Биохимия“.

Дата:  
29.09.2020 г.

Подпис:



(доц. М. Раданова, д.б.)