

## СТАНОВИЩЕ

*от професор Диана Георгиева Иванова, доктор на науките,  
Катедра по биохимия, молекулна медицина и нутригеномика, Факултет по фармация  
при Медицински университет „Проф. д-р Параскев Стоянов“ - град Варна,  
divanova@mu-varna.bg*

член на научно жури по процедура по ЗРАСРБ и ППЗРАСРБ, назначено със Заповед  
№ Р-109-253/20.07.2020 г. на Ректора на Медицински университет „Проф. д-р Параскев  
Стоянов“ – Варна, за присъждане на ОНС „доктор”

*относно* дисертационен труд на **ас. Галя Михайлова Михайлова**, докторант към  
Катедрата по биохимия, молекулна медицина и нутригеномика при Факултета по  
фармация, Медицински университет – Варна

*на тема:* „Скрининг и функционален анализ на нови анти-комплементни автоантитела  
в хода на системен лупус еритематодес

“,

представен за присъждане на образователна и научна степен „**Доктор**“ по научна  
специалност „**Биохимия**“, в област на висшето образование 4. Природни науки,  
математика, и информатика, професионално направление 4.3. Биологически науки

### *Актуалност на дисертационния труд*

Системният лупус еритематодес (СЛЕ) е автоимунно полиорганно заболяване с не  
напълно изяснена етиология. Заболяването засяга хора в млада възраст, като възникването  
на бъбречно увреждане в хода на СЛЕ е една от най-сериозните и чести прояви. Лупусният  
нефрит (ЛН) дава отражение върху качеството на живот на пациентите и прогнозата на СЛЕ.  
Основна роля в имунопатогенезата на СЛЕ и ЛН има системата на комплемента, част от  
вродената имунна защита. От една страна, тя играе роля за възпалителението, имунния  
отговор към автоантигени и предизвиканите в резултат тъканните увреди. От друга, може да  
е причина за развитие на автоимунитет при недостатъчно активиране и нарушен клирънс на  
имунни комплекси и апоптотични клетки. Познанието за появата на автоантителата при СЛЕ  
е още една възможност да се търсят предиктивни неивазивни биомаркери за ранна  
диагностика, за по-точна оценка на активността на заболяването, степента на неговата тежест  
и отговора на терапията. В тази връзка дисертационният труд на ас. Галя Михайлова,  
посветен на търсенето и характеризирането на функционалната активност на нови  
автоантитела срещу компоненти и регулатори на системата на комплемента при пациенти с  
ЛН, представлява актуална и значима от научна и клинична гледна точка разработка.

### *Структура на дисертационния труд*

Представеният дисертационен труд съдържа 136 страници и е онагледен с 54 фигури и 7 таблици. Цитирани са 217 литературни източника. Дисертацията е структурирана както следва: увод - 1 страница, литературен обзор - 20 страници, цел и задачи - 1 страница, материали и методи - 19 страници, резултати - 60 страници, обсъждане - 9 страници, заключение – 2 страници, изводи - 2 страница, приноси - 1 страница, използвана литература – 10 страници. Посочените раздели са в добре балансирано съотношение.

### ***Литературна и методологична обезпеченост***

Литературният обзор разглежда основните характеристики на системата на комплемента: класически, лектинов и алтернативен път за активиране на комплементната система; регулация - негативна и позитивна регулация на комплементната система. Следваща основна част е същността на системния лупус еритематодес и ролята на комплемента при системен лупус еритематодес. Разгледани са автоантителата срещу компоненти на системата на комплемента при лупусен нефрит (антитела срещу C1q, антитела срещу C1s и C1r, антитела срещу C1 Inh, антитела срещу манозо-свързващи лектини, срещу фиколини, срещу C3, срещу C4 и такива срещу конвертазите на комплемента, както и антитела срещу регулаторите на комплемента). Малкото на брой изследвания върху други анти-комплементни автоантитела предполагат потенциалната им патогенетична роля и ги правят обещаващи нови биомаркери на ЛН. Така дисертантката извежда ясно целта и задачите на дисертационния труд - търсене на нови анти-комплементни антитела в ЛН пациенти и изучаване на функционалната им активност.

Дисертационния труд представя резултати, получени и анализирани при използването на най-съвременни препаративни и аналитични методи (ензимно-свързан имуносорбентен анализ, ELISA, Western blot анализи, методи за активиране на системата на комплемента върху късни апоптотични клетки, разработени и проведени в лабораторията INSERM U845, при болница “Некер”, Париж, Франция и други). Взаимодействието на автоантителата с техните антигени е анализирано в реално време, използвайки биосензорен апарат и кореспондиращите биосензорни чипове при прилагането на SPR базираната технология за отчитане на взаимодействия в реално време. Дисертантката е усвоила и приложила и други съвременни методи – метод за теоретично предсказване на антигенни детерминанти за анти-C3, анти-C4 и анти-фактор P, съвременни статистически и графични методи, описани информативно и ясно в раздела „Материали и методи“. Изследвани са 104 пациенти с ЛН, и 81 клинично здрави доброволци, като са включени и анализирани и проби от същите пациенти, събрани също в предходен период, което допринася за получаването на интересни

резултати. Проучването е одобрено от Комисията по етика на научните изследвания към МУ – Варна.

### ***Резултати и обсъждане, изводи и приноси***

Получените нови данни за липсата на автоантитела срещу ранните компоненти на комплемента C2 и фактор В, срещу всички късни компоненти, както и срещу регулаторите C1 Inh и фактор I сочат, че антитела, насочени към тези компоненти, не са част от автоимунния отговор при ЛН. Получени са потвърдителни резултати за наличието на автоантитела срещу C1q, C3 и C4 в българска кохорта от пациенти с лупусна нефропатия. Потвърдена е тенденцията анти-C1q автоантителата да се откриват с по-ниска честота сред пациентите от българската популация, а здравите, позитивни за анти-C1q да имат високи нива на тези автоантитела. Някои от най-съществените приноси на дисертацията включват установяването на специфични анти-комплементни автоантитела срещу фактор Р и определянето на тяхната честота сред пациенти с лупусен нефрит, както и доказване наличие на анти-комплементни автоантитела срещу фактор Н и е определянето на тяхната честота за първи път при пациенти с ЛН в българската популация. Анализирани са взаимовръзки на анти-фактор Р антителата и на анти-фактор Н антителата с рутинни клинично-лабораторни, имунологични и хистологични маркери за оценка на активността и хроничността на ЛН. За първи път е проучена функционалната активност на анти-фактор Р автоантителата. Тези първи експериментални резултати при ЛН пациенти от българската популация показват, че анти-фактор Н и анти-фактор Р автоантителата се обвързват с активната фаза на заболяването, а анти-фактор Р автоантителата имат функционални последици, макар и със слаб ефект. Прави се заключение, че само наличие на анти-фактор Р автоантителата не е достатъчно да индуцира активиране на комплемента и да ускори бъбречно увреждане, а те могат по-скоро да се разглеждат като допринасящ фактор за патогенезата на ЛН.

### ***Преценка на публикационната активност***

Във връзка с дисертационния труд са представени три публикации в пълен текст – две обзорни и една оригинална публикация в списание с импакт ранг Q2, и импакт фактор IF=3,532. Дисертантката е първи автор в една от публикациите. Резултатите са представени пред научната общност и чрез 6 участия на ас. Михайлова в научни форуми, във всичките тя е първи презентиращ автор. Оценявам като съществен принос на докторантката в

провеждането и популяризирането на научните изследвания, анализа на резултатите и в подготовката на научните публикации.

### ***Автореферат***

Съдържанието и качеството на предложения автореферат отговарят на съдържанието на дисертационния труд, спазени са изискванията и са отразени основните резултати, постигнати в дисертацията.

Изследванията в настоящия дисертационен труд са извършени в рамките на два научноизследователски проекта - с институционално и национално финансиране.

### ***Заключение***

Дисертантката е извършила клинично свързано научно проучване, прилагайки съвременни методи и иновативни подходи. Дисертационният труд на ас. Галя Михайлова представя интересно научно проучване върху диагностичния и прогностичен потенциал на серумните концентрации на изследваните автоантитела при лупусния нефрит с приложение в медицинската практика. Дисертантката демонстрира добри теоретични и практически умения за анализиране на клинично свързан научен проблем при приложението на методи и научни подходи от фундаменталните науки. Считаю, че настоящият дисертационен труд напълно отговаря на изискванията за съответната научна степен, формулирани от ЗРАСРБ и Правилника за прилагането у в Медицински университет - Варна. Давам ***положителна оценка*** и предлагам на почитаемото научно жури да присъди научната степен „Доктор“ по специалност „Биохимия“ на ас. Галя Михайлова Михайлова.

Изготвил:



Проф. Диана Иванова, д.б.н.

21.09.2020 г.