

Рецензия

от

проф. д-р Сорен Б. Хайрабедян, дбн

ИБИР, БАН

На дисертационен труд за присъждане на научна и образователна степен "Доктор", научна специалност ш. 01.06.23 „Имунология”, професионално направление ш.4.3. - „Биологически науки”, област на висше образование - „Природни науки, математика и информатика” ш. 4, с автор: **Боряна Петкова, форма на докторантурата: редовна форма на обучение; секция: “Молекулярна имунология”, ИБИР, БАН, на тема: “Изследване на имуномодулиращия цитокин IL- 10, в кръвната рециркулация и на майчино-феталната граница, при нормална и патологична бременност”, с ръководител: доц. Цветелина Орешкова, ИБИР, БАН.**

1. Общо представяне на процедурата и докторанта

Представеният комплект материали на хартиен /електронен носител е в съответствие с Чл.58 от Процедура за придобиване на ОНС „доктор“ в ИБИР, БАН и включва следните документи:

- Заявление до Директора на ИБИР, БАН за разкриване на процедурата за защита на дисертационен труд
- автобиография в европейски формат с подпис на докторанта
- нотариално заверено копие от диплома за висше образование
- заповеди за записване в докторантура, прекъсване на обучението (поради майчинство) и за продължаване на обучението; за отчисляване с право на защита
- протокол за издържан изпит или докторантски минимум по специалността
- протокол от научен съвет за предварително обсъждане на дисертационния труд и взетите решения за разкриване на процедура и за състав на научно жури
- дисертационен труд
- автореферат
- списък и приложени копия на научните публикации по темата на дисертацията
- списък на участия в научни форуми
- декларация за оригиналност и достоверност на приложените документи

Представени са 2 публикации и още 4 труда.

2. Кратки биографични данни за докторанта

Докторантката Боряна Петкова е завършила СУ “Св. Климент Охридски” степен “бакалавър” през 2007г., специалност “Биотехнологии” и през 2010г. Болонски Университет, степен “магистър”, специалност “Молекулярна и клетъчна биология”.

През същата година докторантката Боряна Петкова започва стаж в Новартис Фарма в гр. Базел. През 2011г. е преподавател в Първа Английска Гимназия, гр. София. През периода 2011-2013г е докторант към Женевски Университет, а година по-късно е зачислена като докторант в ИБИР, БАН към секция “Молекулярна Имунология”.

3. Актуалност на тематиката

Представения ми за рецензия дисертационен труд се отнася до изследване на нивата на имуно-регулаторния цитокин IL-10 при нормално и патологично протичаща бременност – спонтанни аборти с оглед ролята му като биомаркер.

Темата на изследването е актуална, т.к. засяга важен - обществено значим проблем, какъвто е „демографският срив“, съпътстващата го намелена раждаемост, и нарасналият дял на репродуктивни проблеми при жените, както и засяга някои аспекти на фундаменталния въпрос за бременността като имунологичен феномен.

Въпреки направените досега изследвания за ролята на IL-10 за протичане на нормална бременност и значението му за поддържане на имунологичния толеранс по време на проинфламаторни стимули и сигнали, все още остава неизяснена напълно ролята му в патологичното протичане на бременността и възникването на спонтанни аборти.

4. Характеристика и оценка на дисертационния труд и приносите

Дисертационният труд е разписан на 127 стр., съдържа 15 самостоятелни или композитни фигури, като са направени 5 извода и са посочени 2 приноса, при цитирани 309 литературни източника. Трудът е добре структуриран, оформен със съдържание, глави съдържащи: Въведение, Цели и задачи, с 42 стр. Обзор, 13 стр. Материали и методи, 33 стр. Резултати с Дискусия, и отделно Заключение.

Въведението във феномена на бременността от имунологична гледна точка е изчерпателно и постепенно, с детайлно описание на структурно-функционалните особености на фазите на морфологични промени на ендометриума и имплантацията, представени са детайлно различни физиологични популации имунни клетки, фенотинизирането им, функционалните промени по време на различните фази на бременността, промените при различни патологични състояния на бременността.

Направена е дискусия по време на обзорната част, в която докторантката обосновава хипотези, върху които гради своите цели и задачи. Преходът е плавен в отделна подточка означена като „Работна хипотеза“, в която са представени коментари и хипотези.

Целта на дисертационният труд е да се установи възможността IL-10 да се използва като маркер за предикция или диагноза на спонтанен аборт, като се изследва ролята му за локалния и системния имунотолеранс, по време на бременността, и да се определи ролята му за ендометриалната рецептивност и специфичност. За решаване на поставената цел са дефинирани пет задачи.

Секция Материали и методи е описана подробно. Представен е значителен брой пациенти, донори на кръв, от която са изолирани плазма и ПМК, както и по малка извадка-донори на децидуална абортивна тъкан.

В методичен план дисертационния труд е богат, като са застъпени методи от клетъчната, молекулярната биология и имунологията.

Всички използвани имунологични и молекулярно биологични методи са детайлно описани, с точност на лабораторен протокол.

Имунофлуоресцентните методи и описанието на флоуцитометричния протокол за фенотипизирането на стромални клетки от децидуализирана тъкан са разписани много добре, с подробно описание на протокола като са посочени точните клонове на mAb, производителите и работните концентрации.

Резултатите и дискусията са оформени в една глава, което в дисертационен труд е модерна тенденция и позволява оптимизирано представяне на експериментални данни и свои хипотези и анализи.

В началото на главата е направена рекапитулация на основната стратегия на изследване, което е много добре като подход. Представени са 10 основни резултати.

Дискусията на данните е самокритична, аналитична и посочва насоки за следващи изследвания. Според мен дори твърде самокритична, т.к., някои от подгрупите са помалки. Изведените „cutoff“ стойности на нивата на цитокини при спонтанните аборти е свързано с последващите изследвания и прави логичен преход към него.

Може да се коментира, че т.к. системните нива могат да имат различен източник, научното търсене правилно е продължило към различните клетъчни източници и установяването на роля им за серумните нива.

В т. 4.1.2. до т. 4.2.2. на „Резултати“ са анализирани нивата на IL-10 и РНК между периферни мононуклеарни клетки и децидуа при бременни, не бременни и спонтанни аборти. Данните са добре представени, много интересни, като изводите могат да бъдат различни. Поздравявам докторанта за желанието и да интерпретира резултатите в светлината на наличната литература, и поставените цели и задачи.

Относно PCR данните за експресия в ПМК, данните са много интересни, те показват (при сравнение на медианите, а не на „outlayers“), че 1-ви триместър има известно повишение в нивата спрямо не бременни, което съответства на данните в литературата, като в края на бременността има силно увеличения съвпадащо с данните от серума. При спонтанните аборти повишени нива има само при „outlayers“, но не е ясно кой клетъчен тип представя нивата.

Нивата в децидуалната тъкан отговарят в много по-голяма степен на тези при серума, но само по отношение на спонтанните аборти, което показва различен източник на феномена в серума.

Нивата на експресия на иРНК на цитокините не корелират със секретирания белтъчен продукт, което е нормално да се очаква.

Въпреки някои разлики в интерпретацията, общите изводи направени от докторантката съответстват на наблюдаваните резултати. Интерпретацията на резултатите е волеви и свободен акт на изследователя и не е задължително да съответства на тази на останалите наблюдатели на феномена.

В т. 4.2.3. е проследена експресията на IL-10 в тъкани за да се определят клетъчните типове, които я определят. Старателно са представени маркерите, дефиниращи клетъчните подтипове. Получените резултати от имунофлуоресцентния анализ на IL-10 са много добре представени. Направен с критичен анализ на собствените данни и са сравнени с наличните в литературата.

Връзката с т. 4.3 в дискусията е добре направена - полуколичествения метод е заменен с *in vitro* модел и количествен с един клетъчен тип.

Структурно дисертацията преминава от периферно кръвообращение-секретирания продукт, през секретирани клетки, към локална тъканна експресия, фенотипни разлики и *in vitro* модел, което е много похвално и отговаря на стандартите за една добре развиваща се история.

Получените *in vitro* резултати за нивата на секретирания пролактин показват, че изолираните от спонтанни аборти клетки са със запазена способност за децидуализация. Резултатите от т. 4.3.3. показват, че IL-10 се отделя предимно при децидуализация, в резултат на специфичното стимулиране.

Интересни са връзките, които докторанта прави между имплантационният прозорец и нивата на IL-10. Направен е извод за IL-10 и ролята му за определяне функционалността на ендометриума. За разлика от установената експресия в ПМК, в *in vitro* модел на децидуализация IL-10 следва очакваното от литературата намаление при спонтанни аборти. Това показва увреди в ендометриалната селективност, свързани с IL-10. Харесват ми разсъжденията за експресията на цитокини и възможността за индуцирана от анеуплоидия трайна инхибиция на неговата експресия, както и посочените обратни сценарии.

В т. 4.3.4. в същите линии е изследван хормона пролактин, а в т.4.3.5. е изследвана интрацелуларно наблюдаваната експресия на количеството му след децидуализация при *in vitro* модел, като това води до увеличението му.

Докторантът заключава, че IL-10 е понижен в някои ДСК при спонтанните аборти, като на този феномен контрастират „компенсаторни“ периферни нива.

Заключителната част е както аналитична, така и дидактично поднесена и по същество представлява допълнителен преразказ на всички основни резултати. В заключение докторантката прави извод, че завишените нива на IL-10 при спонтанните аборти, вероятно са и причина за тях.

5. Автореферат

Авторефератът е подробен, илюстративен и отразява основните резултати, постигнати в дисертацията.

6. Оценка на дисертационния труд и заключение

Дисертационният труд **съдържа научно-приложни резултати, които представляват оригинален принос в науката** и отговарят на всички изисквания на Закона за развитие на академичния състав в Република България (ЗРАСРБ), Правилника за прилагане на ЗРАСРБ и Правилника на ИБИР, БАН. Представения труд представлява интерес не само като тематика, но и с находките си, т.к. отразява на клетъчно ниво установени функции на цитокина в бременността, но също така повдига редица въпроси за формирането на системните му нива и нуждата от нови изследвания и подходи за определяне на източниците му и стойностните интервали, които да помогнат за създаването на адекватни прогностични и диагностични критерии за приложението му в АГ практиката. Дисертационният труд е оформен на добро ниво, изпълнен е с редица методи и прави опит за широко-обхватен анализ на проблема, като повдига и редица въпроси, поради което моето лично мнение е, че е напълно дисертабилен. Няма научно изследване, което да може да отговори на всички въпроси. Поради гореизложеното, убедено давам своята **положителна оценка** за проведеното изследване, представено от рецензираните по-горе дисертационен труд, автореферат, постигнати резултати и приноси, и **предлагам на почитаемото научно жури да присъди образователната и научна степен 'доктор'** на **Боряна Петкова** в докторска програма по **научна специалност „Имунология“, шифър 01.06.23.**

София

19.11.2018г.

С уважение, 
Проф. д-р Сорен Хайрабемян, дбн