

РЕЦЕНЗИЯ

от проф. Анастасия Петрова Михайлова, дм, Катедра по клинична имунология, Медицински факултет на МУ-София, член на научно жури съгласно заповед №65/10.05.2019г. на Директора на ИБИР „Акад. Кирил Братанов” - БАН

ОТНОСНО: Дисертационен труд на тема: **„Роля на γδТ клетките по време на бременността при жената“** за присъждане на образователна и научната степен „Доктор“ по професионално направление 4.3. „Биологически науки” от област на висше образование 4. „Природни науки, математика и информатика”, научна специалност шифър 01.06.23.„Имунология“

Докторант: Антония Илиева Терзиева-Караиванова, БАН, ИБИР „Акад. К.Братанов“, Секция „Имунобиология на размножаването“

Научен ръководител: Доц. д-р Таня Димова

Кратки биографични данни

Антония Илиева Терзиева-Караиванова завършва висше образование – магистър по биология – в Биологически Факултет на СУ „Св.Климент Охридски” през 2014 г. От януари 2015 г. след успешно издържан конкурс е зачислена като редовен докторант към Секция „Имунобиология на размножаването” в ИБИР-БАН. По време на следването си е стажувала в Ин витро клиника „Малинов”, сектор „Репродуктивна имунология” и САГБАЛ „Д-р Щерев”, Андрологичен (криолабораторен) и ембриологичен сектор. Във връзка с разработваната дисертация е участвала в редица специализирани курсове за докторанти към Център за обучение на БАН, както и в 8-мото Европейско училище по имунология (Албания).

Актуалност на разработвания в дисертационния труд проблем

Предоставеният ми за рецензия дисертационен труд третира важни аспекти на репродуктивната биология и имунология, свързани с придобиване на нови знания за имунологичната страна на успешната бременност.

Тясната връзка между майката и плода при плацентарните бозайници създава потенциалния проблем за съвместно съществуване на два генетично различни

индивида за дългия период на бременността. През бременността имунната система на майката трябва да толерира бащините („несвои“) алоантигени от плацентата и/или от фетуса. В този контекст бременността е уникално имунологично предизвикателство, при което феталният алогографт е толериран и не е отхвърлян от реципиента (майката). Още през 1953г. Peter Medawar, пионер в областта на трансплантационната биология и Нобелов лауреат, дискутира в своя лекция този парадокс, който лежи в основата на репродуктивната имунология и до днес продължава да бъде актуален и все още непълно изяснен. Разбирането за това как имунната система на майката реагира на бременността е от решаващо значение не само за по-детайлно изясняване на имунологичната страна на нормалната бременност, но и за възможностите ни да разбираме, да диагностицираме и лекуваме по-добре различни репродуктивни неуспехи и усложнения при бременността.

Въпреки увеличаващите се познания за имунологията на бременността, изследванията на имунните клетки в ендометриума и децидуата все още са фрагментирани. Проучванията при двойки с репродуктивни проблеми показват, че спонтанните рекурентни аборти се асоциират с повишена активност на цитотоксични майчини имунни клетки, към които принадлежат и неконвенционалните $\gamma\delta T$ клетки. Съобщава се също, че $\gamma\delta T$ клетките допринасят за поддържането на толерантност по време на бременност.

Представеният ми за рецензия дисертационен труд изследва количествената динамика, фенотипните вариации и репертоарното разнообразие на $\gamma\delta T$ клетките по време на нормална бременност при жената. Имунорегулаторната и цитотоксична функции на $\gamma\delta T$ клетките от една страна и от друга страна, все още недостатъчната информация за участие на различните субпопулации на тези клетки при нормално протичаща бременност и репродуктивни неуспехи, обосновават проучването им осъществено в дисертационния труд. Предвид гореизложеното считам, че темата на дисертационния труд е много актуална и навременна за медико-биологичната наука и репродуктивната имунология.

Структура на дисертационния труд

Дисертационният труд е оформен в традиционна форма със съответните раздели - литературен обзор, цел и задачи, материал, методи, резултати и обсъждане. За разработването му са цитирани 294 литературни източника, от които всички на латиница.

индивида за дългия период на бременността. През бременността имунната система на майката трябва да толерира бащините („несвои“) алоантигени от плацентата и/или от фетуса. В този контекст бременността е уникално имунологично предизвикателство, при което феталният алогографт е толериран и не е отхвърлян от реципиента (майката). Още през 1953г. Peter Medawar, пионер в областта на трансплантационната биология и Нобелов лауреат, дискутира в своя лекция този парадокс, който лежи в основата на репродуктивната имунология и до днес продължава да бъде актуален и все още непълно изяснен. Разбирането за това как имунната система на майката реагира на бременността е от решаващо значение не само за по-детайлно изясняване на имунологичната страна на нормалната бременност, но и за възможностите ни да разбираме, да диагностицираме и лекуваме по-добре различни репродуктивни неуспехи и усложнения при бременността.

Въпреки увеличаващите се познания за имунологията на бременността, изследванията на имунните клетки в ендометриума и децидуата все още са фрагментирани. Проучванията при двойки с репродуктивни проблеми показват, че спонтанните рекурентни аборти се асоциират с повишена активност на цитотоксични майчини имунни клетки, към които принадлежат и неконвенционалните $\gamma\delta$ T клетки. Съобщава се също, че $\gamma\delta$ T клетките допринасят за поддържането на толерантност по време на бременност.

Представеният ми за рецензия дисертационен труд изследва количествената динамика, фенотипните вариации и репертоарното разнообразие на $\gamma\delta$ T клетките по време на нормална бременност при жената. Имунорегулаторната и цитотоксична функции на $\gamma\delta$ T клетките от една страна и от друга страна, все още недостатъчната информация за участие на различните субпопулации на тези клетки при нормално протичаща бременност и репродуктивни неуспехи, обосновават проучването им осъществено в дисертационния труд. Предвид гореизложеното считам, че темата на дисертационния труд е много актуална и навременна за медико-биологичната наука и репродуктивната имунология.

Структура на дисертационния труд

Дисертационният труд е оформен в традиционна форма със съответните раздели - литературен обзор, цел и задачи, материал, методи, резултати и обсъждане. За разработването му са цитирани 294 литературни източника, от които всички на латиница.

Дисертационният труд обхваща 123 стр., от които Увод - 1 стр., Литературен обзор – 25 стр., Цел и задачи - 1 стр., Материал и методи – 23 стр., Резултати - 26 стр., Дискусия – 17, Изводи – 2 стр., Приноси - 1 стр., Използвана литература– 20 стр. Дисертацията е оформена отлично, онагледена с 32 фигури и снимки, много от които цветни, и 3 таблици. Част от тях са включени в „Литературен обзор” и „Материал и методи”, което подпомага и улеснява читателя при възприемане на текста. Изведени са най-често използваните в разработката съкращения на кирилица и латиница. Съдържанието е представено изключително подробно и коректно. Отделните раздели и подраздели са много логично и добре подредени, което дава яснота и прегледност на дисертационния труд.

В обобщение, структурата на дисертационния труд е в съответствие с процедурните изисквания на Правилника за условията и реда за придобиване на научни степени и заемане на академични длъжности в ИБИР-БАН.

Кратък анализ на дисертационния труд

Литературният обзор представя много добре съвременното състояние на проблематиката и логично очертава необходимостта от провеждане на изследването. Систематизиран е в няколко основни точки, описващи бременността при жената и различните имунни клетки на майчино-феталната граница. Наблегнато е на неконвенционалните $\gamma\delta T$ клетки – обект на проучването, детайлно са описани фенотипните и функционалните им характеристики, като е акцентирано върху известните до сега данни за тяхното участие по време на бременност. Обърнато е внимание и на ролята на микробиота в репродукцията, проучвания които са в самото си начало, и по-конкретно на L-формите при БЦЖ ваксинирани бременни жени и патоген-реактивните $\gamma\delta T$ клетки.

Обзорът е написан ясно, конкретно и компетентно. Анализирайки известните до сега литературни данни А. Терзиева отбелязва и все още неизяснените факти, с което очертава необходимостта от провеждане на изследванията. Това ѝ позволява от една страна в края на литературния обзор да формулира хипотеза за ролята на $\gamma\delta T$ клетките по време на бременността, а от друга - конкретната цел и задачите, които да използва за решаването ѝ. Като цяло литературният обзор показва, че дисертантката познава отлично съвременното състояние на проблема и е много добре подготвен в теоретично и практическо отношение млад учен.

Целта на дисертационния труд е конкретно и ясно формулирана: „Да се проучи ролята на $\gamma\delta T$ клетките по време на нормална бременост при жената с акцент върху количествената им динамика, фенотипни вариации и репертоарно разнообразие“. За нейното реализиране дисертантката си е поставила 5 основни **задачи**, които са логично развитие на целта, добре формулирани и изпълнени на високо професионално ниво.

Раздел **Материал и методи** описва контингента изследвани жени и използваните методи. В проучването са включени 3 групи жени: 2 групи бременни – в 1-ви и 3-ти триместър на бременността и контролна група от здрави небременни жени. Броят на изследваните е достатъчен при използваните статистически методи да се правят съответните изводи от получените резултати. Образците на изследване включват тъканен материал (децидуа) от двете групи бременни и периферна кръв от бременни в 1-ви триместър и небременните жени. По мое мнение би било добре да се изследват чифтни образци и от жените с доносена бременност. Поради факта, че периферната кръв е по-достъпна за изследване, информацията за имунологичните промени в нея по време на бременност ще бъде от полза за клинично-лабораторни изследвания при репродуктивни нарушения. Предполагам, че липсата на такива проби в настоящото проучване е свързано с някои технически затруднения по вземане на материал при раждане, а не с дизайна на проучването.

По отношение на методологичната част трябва да подчертая, че са усвоени и използвани най-съвременни имунологични (флоуцитометрично имунофенотипизиране), хистологични (имуноохистохимични) и молекулярно-биологични (RT-PCR) методи и технологии. Подбраните методики и комбинацията им са абсолютно адекватни и позволяват решаване на поставените задачи. Подробното и прецизно описание на методиките дава възможност да бъдат възпроизведени без да се използват допълнителни източници и оставя впечатление за много добра професионална подготовка на докторантката - доказателство за акуратността на проведените изследвания. Фигурите и снимките (собственост на авторката) за онагледяване на използвания материал и методи, както и приложението с подробно описание на методологичните протоколи, позволяват лекота на прочита и възприемането на методологичната част. Методите за статистическия анализ са адекватни и надеждни, осигуряващи правилното интерпретиране на получените резултати

В раздел V. **Резултати** авторката представя и обяснява в хронологичен ред, следващ поставените задачи, получените при проучването данни. Резултатите са

изложени в 7 подраздела, много добре онагледени със снимков и графичен материал, като няма припокриване на информацията, която последният съдържа. Като цяло резултатите са представени коректно, систематизирано и подробно. При представянето им вместо ковенционално озаглавяване са използвани като заглавия обобщения на данните от съответния подраздел. Намирам този подход за много уместен, поради това че се насочва и акцентира върху най-съществените находки. В хода на представянето са правени логични обяснения и коментари, касаещи получените резултати.

Бих искала да подчертая някои от *резултатите и приносите*. В резултат на извършеното от дисертантката комплексно и обхватно по замисъл фундаментално проучване убедително се демонстрира:

- Увеличаване пропорцията на $\gamma\delta$ T клетки на майчино-феталната граница по време на ранна бременност в сравнение с кръвта.
- Наличие на интраепителни $\gamma\delta$ T клетки в децидуалните жлези по време на ранна бременност при жената – важна находка, наблюдавана за първи път и оригинален принос.
- Различие в стадия на диференциация на $\gamma\delta$ T клетките в зависимост от етапа на бременността – на майчино-феталната граница в ранна бременност предобладават крайно диференцираните ефекторни, докато в края на бременността доминират наивните $\gamma\delta$ T клетки.
- Съвместимост на ефекторен про-възпалителен фенотип на децидуални $\gamma\delta$ T клетките с нормална ранна бременност – данни в подкрепа на актуалните концепции за ролята на възпалителните процеси по време на бременността.
- Доминиране на V δ 1 $\gamma\delta$ T клетките на майчино-феталната граница.
- Олигоклонална експанзия на γ 9 транскрипти със силно рестриктиран CDR3 γ 9 репертоар в децидуа от ранна и доносена бременност.
- Наличие на микобактериални L-форми в плацентобиома на БЦЖ ваксинирани бременни жени, като колонизацията на плацентобиома не повлиява количеството на плацентарните патоген-реактивни V δ 2 $\gamma\delta$ T клетки – оригинални, докладвани за първи път данни.

В *дискусията* компетентно, задълбочено и аргументирано са обсъдени собствените данни в съпоставка със съвременните познания в тази област, с аналитична и критична интерпретация, ясно показващи постигнатото от дисертационния труд. В същото време са очертани неизяснените проблеми и новите насоки за научни

изследвания. Като обобщение на по-голяма част от резултатите е предложен модел за фенотипен и спектрален профил на $\gamma\delta T$ клетки на майчино-феталната граница и в периферна кръв по време на ранна бременност при жената.

Изводите (10 на брой) са точно формулирани и правилно интерпретират основните резултати на дисертационния труд.

Приносите, посочени от кандидатката, са безспорни и приемам изцяло. Получените от научната разработка резултати могат да хвърлят светлина върху неизяснени до сега клетъчни и молекулни механизми на някои основни процеси, свързани с имунобиологията на нормалната бременност, което в бъдеще може да допринесе за нови възможности за справяне с безплодието и спонтанните аборти.

Дисертационният труд е написан, оформен и онагледен изключително старателно, добре балансиран по обем между отделните раздели, което прави много добро впечатление.

Авторефератът е изготвен съгласно изискванията и напълно отговаря на структурата на дисертационния труд. Запознаването с него дава възможност изцяло да бъде разбран разработваният проблем, проведените изследвания и тълкуване на получените резултати. Отразени са публикациите, участията в научни форуми и проект, свързани с дисертацията. Към автореферата имах някои препоръки, които са отразени в окончателния му вариант.

Наукометрични показатели

Данните от дисертационния труд са обобщени в 2 публикации, в реномирани списания с висок импакт фактор, като дисертантката е съответно първи и втори автор. Една от публикациите вече има 2 цитирания. Резултатите са представени като 5 устни съобщения и 6 постера на 7 научни форума у нас и в чужбина, като при 6 от тях дисертантката е презентиращ автор. Наукометричните показатели са напълно достатъчни за покриване на законовите изисквания.

Критични бележки

Не установявам съществени слабости на дисертационния труд. Малкото критични бележки съм посочила в предварителната рецензия. Те са по-скоро стилови и

технически, в никакъв случай не омаловажават достойнствата на дисертационния труд и дисертантката се е съобразила с тях.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Оценявам високо дисертационния труд, актуалността му, стойността на получените данни и значимостта на приносите. Считам, че е извършена значителна изследователска работа, получени са оригинални и със съществена научна стойност резултати, очертани са важни приноси от научен характер, което напълно отговаря на изискванията за докторска дисертация. Представеният труд без съмнение характеризира докторантката като перспективен млад изследовател, който има задълбочени знания, аналитична мисъл, качества, компетентности и възможности за самостоятелно провеждане на научно проучване и решаване на научни проблеми.

Бих искала да подчертая, че за професионалното и научно развитие на А.Терзиева-Караиванова са помогнали от една страна натрупаните теоретични знания и лабораторни умения при разработване на дипломната ѝ работата, която също е по тематика от репродуктивната имунология, а от друга възможността да работи под ръководството на безспорни капацитети в тази област (доц.д-р Р. Русев – ръководител на дипломната ѝ работа и доц. д-р Т.Димова – научен ръководител на докторантурата).

В заключение, считам че предоставеният ми за рецензия дисертационен труд напълно отговаря на задължителните условия, съгласно регламента за придобиване на научни степени в Института по биология и имунология на размножаването „Акад. К.Братанов” при Българската Академия на науките (ИБИР-БАН), както и на изискванията на Закона за развитие на академичния състав в Р. България и на Правилника за прилагането му. Всичко това ми дава основание убедено да препоръчам на уважаемото научно жури да гласува положително за **присъждане на Антония Илиева Терзиева-Караиванова на образователната и научна степен „доктор“** в професионално направление 4.3. „Биологически науки” от област на висше образование 4. „Природни науки, математика и информатика”, научна специалност шифър 01.06.23.„Имунология“

12.06.2019

Рецензент: (Проф.А.Михайлова, дм)

София