

РЕЦЕНЗИЯ

На дисертационен труд на тема:

“Роля на $\gamma\delta$ Т клетките по време на бременността при жената” на докторант
Антония Терзиева-Караиванова, с научен ръководител доцент д-р Таня Димова
Секция Имунобиология на размножаването, Институт по биология и имунология
на размножаването “Акад. Кирил Братанов”, Българска Академия на Науките

За присъждане на образователната и научна степен “доктор”

От: Доцент, д-р Велислава Терзиева, дм
Секция Имунобиология на размножаването, Институт по биология и имунология
на размножаването “Акад. Кирил Братанов”, Българска Академия на Науките

Дисертационният труд на Антония Терзиева-Караиванова е фокусиран върху много интересен имунологичен проблем - $\gamma\delta$ Т клетките. Същественият принос на работата е двупосочен – от една страна са разгледани самите $\gamma\delta$ Т клетки, а от друга – тяхното значение за нормалната бременност.

Имунологичният парадокс при бременността е вълнуваща научна област, в която се работи изключително интензивно. Известни са много факти, които показват необичайна регулация на имунната система във всичките и направления – естествен и придобит имунитет, поведението на отделните клетъчни субпопулации. Въпреки това, проучванията върху $\gamma\delta$ Т клетките остават сравнително ограничени. Дори извън репродуктивната имунология тази популация е относително слабо изследвана, но все повече автори подчертават значението и за комплексните взаимодействия в различни физиологични и патологични ситуации.

Дисертацията е написана на 118 страници, включително представени 294 автора в библиографията. Трудът е разпределен в седем основни раздела: Увод, Анализ на литературните данни, Цел и задачи, Материали и Методи, Приложение към материали и методи, Резултати, Дискусия и Изводи. Изложението е онагледено с 32 фигури. Общото впечатление от дисертацията показва задълбочено познаване на материята и свободно владение на специфичната терминология.

Докторантката е направила подробен анализ на научната литература, свързана с работата в следните направления – биологична характеристика и имунологични аспекти на бременността, имунологичен парадокс, имунни клетки при бременност и тяхното значение. Акцентът е поставен върху $\gamma\delta$ Т клетките и техните характерни особености.

Последният раздел на обзора е фокусиран върху много актуален и интересен, от медицинска и научна гледна точка, проблем – плацентарния микробиом и “нестерилността” на плацентата. В тази част са представени данни

за възможността $\gamma\delta$ Т клетките да развият адаптивен, "паметов" отговор към микобактериум туберкулозис антигени чрез размножаване на активирани и диференцирани $\gamma\delta$ Т клетки с определен TCR. В този смисъл, ролята на $\gamma\delta$ Т клетките като активни участници в поддържането на имунологичния парадокс по време на бременност е отчетливо дефинирано.

Прави впечатление широкият времеви диапазон на цитираната литература от 1993 до най-скорошни публикации.

Обзорът е подреден в последователност, която показва задълбочено разбиране на обекта на проучването. Чрез ясно очертаване на все още неизяснените проблеми в областта на изследване, е постигнат логичен и плавен преход към целта и задачите на дисертационния труд.

Цел и задачи

Целта и задачите са формулирани ясно и кратко.

Те произлизат от изведените в обзора въпроси.

От тях се вижда цялостен подход при изследването на $\gamma\delta$ Т клетките при жени с нормална бременност – *in situ* локализация, *ex vivo* количествен и фенотипен анализ, количествено изследване на патоген-реактивната субпопулация V δ 2, както и разнообразието на TCR репертоар на $\gamma\delta$ Т клетките в периферна кръв и на майчино-феталната граница.

В раздела **Материали и Методи** са представени използваните по време на работата методи. Описанието им е много подробно и позволява тяхното независимо повторение. Впечатление правят три момента. Първият е коректното представяне на групите жени, включени в проучването. Вторият е акцентът върху етичната част, свързана с взимането на проби, вкл. информираното съгласие, съобразяването с Декларацията от Хелзинки. Третият важен елемент е включването на допълнителен раздел Приложение, в който са разписани използваните реагенти и протоколи, антитела и праймери. Всичко това показва научнообоснован подход при подбора и изпълнение на съответните методи.

По време на докторантурата, дисертантката е овладяла основните съвременни имунологични, хистологични и молекулярно-биологични методи, както е от представената в точки 2 – 4 информация. Това е позволило извършването на значителна по обем експериментална работа.

Представеният снимков материал и придружаващите го схеми приемам като доказателство за това, че по време на докторантурата, Антония Терзиева-Караиванова е придобила достатъчно добра методична подготовка, за да изработи самостоятелно и с разбиране експерименталните задачи.

Разделът **Резултати** е подреден стройно и логично. Представените в отделните глави данни съответстват на описаните в предходната глава методи. Това показва, че докторантката не само е изработила самостоятелно експерименталните задачи, но успешно е анализирала получените данни.

Тази част от дисертацията е разпределена в седем подраздела. Всички описани резултати са представени със съответния доказателствен материал под формата на фигури от статистическата обработка, софтуерен анализ и снимков материал.

Намерена е специфична локализация на $\gamma\delta$ Т клетките на майчино-феталната граница – в клъстери до децидуални жлези, интраепителиално и като самостоятелни клетки в децидуалната строма, като последният резултат не е описван до момента в литературата. Паралелното изследване на тези клетки е показало, че те са значително повече на майчино-феталната граница в сравнение с периферна кръв от същите пациентки. Намерена е и характерна разлика между бременни и небременни жени по отношение на двете субпопулации V δ 1 (преобладаващи при бременни) и V δ 2 (преобладаващи при небременни) в периферията). Друга характерна особеност е, че при бременни, независимо от стадия на бременността, т.нар. “патогенни” V δ 2 Т клетки, запазват нивата си ниски.

Известно е, че бременността се съпровожда със значителни изменения в имунокомпетентните клетки, особено Т клетките. В настоящата работа е показано, че измененията засягат и $\gamma\delta$ Т клетките. Те са изразени в активирането им, установено по експресията на активационната молекула HLA-DR и активиращият рецептор NKG2D. Особено интересни са резултатите от фенотипния анализ на $\gamma\delta$ Т клетките. Установено е доминиране на терминално диференцираните клетки на майчино-феталната граница по време на ранната бременност – около 74% от всички $\gamma\delta$ Т клетки.

След фенотипната характеристика на $\gamma\delta$ Т клетките, експериментите са насочени естествено към изследване на тяхната функция. Това е трудно постижимо, особено при малка популация. Поради това оценявам избрания експериментален подход като удачен и предоставящ адекватни данни. Изследвани са два homing рецептора – за хомеостатичен CCR7 и за инфламаторен CCR5. Така е показано, че проинфламаторните $\gamma\delta$ Т клетки (CCR5+) са доминиращите в ранната бременност на майчино-феталната граница. В допълнение са анализирани и перфорин-продуциращите $\gamma\delta$ Т клетки в периферна кръв и в ранна и терминална децидуа. Интересен е фактът, че перфорин-продуциращата фракция е значително по-добре представена в периферната кръв, отколкото в децидуата.

Последната част от този раздел разглежда връзката между плацентарния микробиом и количеството на резидентните патоген-реактивни $\gamma\delta$ Т клетки. Получените резултати показват, че наличието на микобактериалните L-форми в плацентобиома не променя нивата нито на V δ 2 Т клетките, нито на $\gamma\delta$ Т клетките и на Т клетките като цяло. Според показаните резултати от спектроскопските профили на CDR3 регионите на δ и γ веригите на TCR $\gamma\delta$, обаче се установяват известни различия, най-силно изразени в олигоклоналната експанзия на V γ 9

транскрипти и силно рестриктиран $\gamma 9$ репертоар, както и значително разнообразни CDR3 региони на $\delta 1$, $\delta 2$ и $\delta 3$ веригите.

В раздела **Дискусия** е направен подробен анализ на получените резултати в светлината на настоящите данни в литературата. Акцентът е поставен върху биологичния смисъл на намерените факти – създаване на имунотолерантна среда и едновременно – осигуряване на защита срещу патогени. Предложен е модел за децидуа-специфичен фенотип и спектрален профил на $\gamma \delta$ Т клетките по време на ранна бременност при жената. Като цяло, обсъждането е написано аналитично и показва способността на докторантката да осмисля експерименталните данни като се опира на досегашните научни постижения в областта, да обобщава постигнатото и да намира насоки за бъдеща работа.

В осма глава **Изводи**, са изброени 10 извода. Те отразяват получените резултати и направените анализи.

Оригиналните приноси на дисертационния труд са 5 и са посочени на стр. 98. Те се отнасят както за $\gamma \delta$ Т клетките, така и за плацентобиома и отварят нови възможности за продължаване на изследванията в тази посока. Израз на значимостта на постигнатото от Антония Терзиева-Караиванова са двете публикации в реферирани, високо импактни списания.

По отношение изпълнение на кредитната програма – докторантката е събрала 342 точки при минимум от 250 т., с което напълно отговаря на изискванията.

Имам забележка към оформлението:

- Фигура 18 – FACS плотовете биха били по-лесно възприемани, ако този, който се отнася за небременните жени са представени в началото.

В заключение, представеният дисертационен труд разглежда проблем с много важно имунологично, медицински и социално значение. Основан е на значителна по обем работа с използване на най-съвременни имунологични и молекулярно-биологични методи. Получените резултати, анализирани в светлината на научните достижения в областта, са не само много интересни. Те отварят нови посоки за научни изследвания и разширяват познанията в областта на репродуктивната имунологията. Това ми позволява да дам отлична оценка на дисертацията на Антония Терзиева-Караиванова.

Препоръчвам на членовете на уважаемото научно жури да подкрепят работата на Антония Терзиева-Караиванова за присъждане на научната и образователна степен “доктор”.

Имам два въпроса към дисертантката:

- Какъв е биологичният смисъл на различната локализация на $\gamma\delta$ Т клетките, която е намерена?
- Предвид сложните взаимодействия между ендокринната и имунната система, на какво може да се дължи експресията на HLA-DR в $\gamma\delta$ Т клетките?

12 юни 2019 г.
София

Рецензент:
доцент, д-р Велислава

