

Институт по биология и  
имунология на  
размножаването - БАН  
408-НО/13.06.19  
от доц. д-р

## СТАНОВИЩЕ

от доц. д-р **Таня Георгиева Димова, ИБИР-БАН, София**  
член на научно жури съгласно заповед № 65/10.05.2019 г.  
на Директора на Институт по биология и имунология на размножаването, БАН

**относно дисертационен труд за присъждане на образователната и научна степен „ДОКТОР” по научна специалност „Имунология” – шифър 01.06.23, професионално направление 4.3. Биологични науки на редовен докторант **Антония Илиева Терзиева-Караиванова**, секция „Имунобиология на размножаването”, ИБИР - БАН.**

**Тема на дисертационния труд: „Роля на гама делта Т клетките по време на бременността при жената”**

**Научен ръководител: доц. д-р Таня Димова, DVM, PhD**

### **Актуалност и значимост на тематиката**

В представеният ми за рецензиране дисертационен труд е анализиран профила на неконвенционалните  $\gamma\delta$ Т клетки по време на бременността при жената, които в същността си са цитотоксични и проинфламаторни Т клетки. Това прави темата на дисертационния труд изключително актуална. От една страна редица изследвания показват, че при много двойки с инфертилитет се случват спонтанни рекурентни аборти в резултат на повишена цитотоксичност на майчини имунни клетки. От друга страна обаче нормално на майчино-феталната граница по време на ранната бременност при жената са струпани голямо количество цитотоксични клетки, чиято цитотоксичност в известен смисъл е компрометирана по все още неясни механизми. Дълго време учените в областта възприемаха концепцията, че успешната бременност е съвместима единствено и само с Th2 доминиран майчин имунен отговор. Но съвсем нови данни показват, че периимплантиционните събития протичат в среда на меко възпаление и че децидуалните лимфоцити по време на бременността при жената имат предимно Th1, Th17 и Т-регулаторен профил. Всичко това показва, че имунологичната страна на бременността продължава да бъде черна кутия за репродуктивните имунолози. Успешната бременност като цяло се свързва с прецизен контрол върху адаптивната имунна система на майката (конвенционалните Т клетки) за да се предотврати реакция на отхвърляне на фетуса, носещ бащини алоантигени и компенсаторен превес на вродената имунна система, част от която са  $\gamma\delta$  Т клетките. За разлика от сравнително добре проучените вродени имунни клетки на майчино-феталната повърхност - утеринните NK клетки - по време на ранната бременност, данните за  $\gamma\delta$  Т клетките като част от децидуа-асоциираната лимфоидна тъкан са противоречиви и недостатъчни. Тези клетки са на границата между вродена и адаптивна имунна системи и разпознават както патогени, така и стресирани и неопластични клетки чрез изцяло нови и различни механизми за антигенно разпознаване и представяне, сравнени с конвенционалните Т лимфоцити. Проучванията в рамките на този дисертационен труд са насочени към оценка на количествената динамика, фенотипните и репертоарни вариации на  $\gamma\delta$ Т клетките по време на бременността при жената, както в кръвта на бременните жени, така и в мястото на контакт с ембриона с оглед изясняване на тяхната роля за успешна бременност при жената. Получените данни в този дисертационен труд допълват и биологията на тези енигматични лимфоцити, които са част от една изключително пластична имунна система, чийто профил по време на бременността се оформя не само от срещата с фетални ало-антигени, инфекции и/или чуждомолекулни комплекси, но и от продукти на ендогенен стрес, съпътстващ тъканното ремоделиране преди, по време на и след имплантацията. Друг не по-малко интересен аспект в дисертационния труд са проучвания върху плацентобиома в контекста



на БЦЖ ваксинацията и резидентните патоген-реактивни  $\gamma\delta T$  клетки. Вече се подлага на съмнение общовъзприетото схващане, че нормалната бременност протича в стерилна среда. Изглежда, че плацентата е колонизирана с непатогенни бактерии като се дефинира т. нар. плацентарен микробиом (плацентобиом). Малкото изследвания в тази посока досега са заради това, че микробния статус на плацентата се проучва единствено и само в контекста на преждевременно раждане или преждевременна руптура на феталните мембрани т.е. при някаква патологична ситуация и защото изначално и традиционно плацентата се възприема като стерилна при нормална износена бременност. При проучвания с човешка плацента в последните години учените откриват динамичен плацентарен микробиом със специфични метаболитни функции, чийто ефект върху развиващия се фетус тепърва ще се проучва.

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

Дисертационният труд е написан на 123 стандартни страници, вкл. литературна справка от 294 източника, всички на латиница и е онагледен с 32 фигури и 3 таблици. Обичайните раздели са под формата на отделни глави, съотнесени пропорционално.

**Литературният обзор** е стегнат и логичен, оформен в отделни параграфи, посветени на бременността и имплантацията при жената, имунологичните аспекти на бременността, връзката между плацентобиома и БЦЖ ваксинацията на бременните жени и акцентът се поставя върху популациите имунни клетки в мястото на контакт с ембриона и конкретно върху Т-клетъчния имунен отговор. Читателят постепенно бива насочен към предходни по-стари и нови изследвания върху ролята на неконвенционалните гама делта Т лимфоцити за успешната бременност при жената. Литературният обзор завършва с кратко обобщение и авторката издига хипотезата, че по време на бременността при жената  $\gamma\delta T$  клетките са хетерогенна и динамична популация количествено, фенотипно и репертоарно, което е предпоставка за участието им в редица механизми за протекция на плацентата от възможни трансплацентарни инфекции, установяването на локална имунна толерантност и контрол на трофобластната инвазия, неопластична трансформация и/или репарация на тъканите. И тук логично е поставена целта на собственото научно изследване, а именно да се анализира количествената динамика, фенотипния профил и репертоарното разнообразие на  $\gamma\delta T$  клетките в децидуа от ранна и доносена бременност, както и в кръвта на бременни жени. Формулирани са пет задачи, ясни, точни и адекватни на поставената цел, за изпълнение на които са приложени релевантни класически и модерни методи. Разделът **“Литературен обзор”** е информативен, целенасочен и лек за възприемане и поради наличието на пояснителни схеми.

В раздел **„Материали и методи”** прави впечатление набора от разнообразни методи като имунофенотипизиране, хистологични анализи и имуноскопски анализи, позволяващи широкообхватен поглед към проблема като добре е комбинирана класическа с модерна методология. Количеството на изследваните жени е достатъчно за подобен тип изследвания - в проучването са включени 32 жени с начална бременност, 26 жени с доносена бременност и 23 здрави небременни жени като контролна група. Спазени са всички етични изисквания при работа с човешки образци. Изследвани са кръвни и тъканни образци от ранна и терминална децидуа като адекватно са подбрани и гестационните периоди на изследване. Особено информативен като подход е сравнителния анализ на чифтни образци – кръв и децидуа от една и съща жена. Подходите на изследване и методите са подбрани прецизно, така че да осигурят изпълнението на заложените задачи. Материалите и методите са описани изчерпателно като са приложени схеми и собствени снимки за улесняване на читателя. В раздела има Приложение с рецепти и протоколи, което позволява експериментите да бъдат повторени без проблем от други изследователи.



Данните в раздел “**Резултати**” са групирани според поставените задачи и онагледени с достатъчно по обем качествени снимки и графики. Резултатите са докладвани стегнато и разбираемо. Оценявам високо извеждането на основния резултат от всяка група експерименти като заглавие под формата на извод. Така дефинираните изводи, предшествващи описанието на резултатите, подканят читателя да проследи направените експерименти и получените резултати. Същият маниер е следван и в публикациите по дисертацията. Добре обмислените и достатъчни контроли във всеки експеримент осигуряват категоричността на резултатите. Получените резултати показват, че  $\gamma\delta$  Т лимфоцитите са резидентни клетки в децидуалната тъкан по време на бременността при жената, показвайки специфична локация и клъстериране. Ранната бременност индуцира по-голямо количество на  $\gamma\delta$ Т клетките на майчино-феталната граница в сравнение с кръвта на бременните жени, но не повлиява количеството на периферните  $\gamma\delta$  Т клетки. Интересно е да се отбележи че гама делта Т клетките на майчино-феталната граница по време на ранната бременност при жената са активирани, напълно диференцирани, проинфламаторни и потенциално цитотоксични ефекторни клетки, показвайки децидуа-специфичен фенотип, но неспецифичен, доста разнообразен и нефокусиран TCR репертоар. В духа на модерното научно изследване най-значимите резултати са представени схематично под формата на графичен абстракт.

**Дискусията** е най-трудната и същевременно най-интересната част от всеки дисертационен труд и е показателна за професионалната подготовка на докторанта. Авторката коректно е отразила получените данни от други автори и на фона на тях критично е анализирала собствените си резултати. Поставен е акцент върху оригиналните резултати, но също така са показани и лимитите на направеното проучване като са очертани перспективи за нови изследвания по темата. Изведени са десет извода, които са ясни, точни и категорични, без излишни предположения. Обособена е отделна глава с оригиналните приноси на дисертационния труд.

Авторефератът правилно отразява основните резултати на дисертационния труд и е оформен адекватно с малки неточности в описанията и някои технически пропуски, които във финалния му вариант са коригирани.

Актуалността на тематиката и качествата на дисертационния труд са безспорни. Доказателство за това е фактът, че основните резултати са публикувани в две статии в реферирани списания с общ IF близо 9. В едната статия докторантката е първи автор. Въпреки, че публикациите са от предходната и от тази година вече се забелязват три цитирания. Антония Терзиева-Караиванова има изнесени три устни доклада и осем представени постери с резултати от дисертацията на различни научни форуми у нас и в чужбина. Резултати от дисертацията са представени и на институционални семинари на ИБИР. Наукометричните показатели напълно удовлетворяват националните и институционалните изискванията за научен труд от такъв ранг.

**ЗАКЛЮЧЕНИЕ:** Дисертационният труд на редовен докторант Антония Терзиева-Караиванова е изработен и представен с необходимата научна компетентност върху тематика, която е актуална. Този научен труд напълно отговаря на изискванията за придобиване на образователна и научна степен „Доктор”, заложен в Закона за развитие на академичния състав в РБ и Правилника за неговото приложение и в Правилниците на БАН и ИБИР. Убедено давам положителна оценка и препоръчвам на уважаемите членове на Научното жури да вземат решение за присъждане на образователната и научна степен ”Доктор” по научната специалност „Имунология” на Антония Илиева Терзиева-Караиванова.

13.06.2019 г.

Доц. д-р Тая Димова, двм, PhD