

С Т А Н О В И Щ Е

От доц. Тренка Аргирова Гетова

Относно: Дисертационния труд на Вишня Стойчева Стоянова на тема: „Анализ на взаимодействието на C1q с IgG в норма и патология” за присъждане на ОНС „Доктор”

C1q - първият подкомпонент на системата на комплемента е сложна молекула, която разпознава и взаимодейства специфично с разнообразни лиганди, осъществявайки редица важни функции като активирането на комплементната система по класическия път, отстраняването на имунните комплекси и апоптотичните клетки и др. Настоящата дисертация е посветена на изясняване на причините и механизмите, които водят до превръщането на C1q от молекула, разпознаваща IgG в състава на имунните комплекси, без разлика от антигенната му специфичност в молекула – автоантиген, индуциращ синтезата на специфични антитела срещу различни епитопи от молекулата си. Докторантката се опитва да отговори на въпроса, какво причинява нарушаването на имунологичната толерантност на организма към C1q и той става имуногенен, какви са антигенните му свойства и какви епитопи разпознават антителата в цялата молекула и във функционално важните ѝ фрагменти.

Темата е значима и актуална. В теоретичен аспект, изследванията допринасят за изясняване на механизмите за нарушаване на имунологичната толерантност на организма към собствените компоненти, което води до възникване на автоимунен процес и сериозни патологични състояния. Те са принос и към проблема за същността на междумолекулното разпознаване, което стои в основата на всички биологични процеси. В практически аспект, напредъкът на изследванията в тази област има пряко отношение към диагностиката, прогнозата и мониторинга на заболявания като Системен лупус с неговите разнообразни усложнения, болест на Алцхаймер и др. автоимунни и инфекциозни заболявания. Този напредък е предпоставка за разработването на нови стратегии за прогноза и лечение на редица заболявания.

Дисертационният труд съдържа експериментални данни от изследването на серуми от различни донори за нивото и епитопната специфичност на антитела срещу C1q и фрагментите ѝ. Изследвани са здрави пациенти, здрави бременни жени – рискова група за отключване на Системен лупус и от пациенти с диагностициран Лупусен нефрит в различни фази на заболяването. Данните за връзката между нивото на антителата срещу C1q и различните ѝ фрагменти и развитието на Лупусен нефрит в литературата са твърде противоречиви. Преобладава мнението, че при определени условия се изработват автоантитела, предимно срещу неоепитопи в колагеноподобния фрагмент на C1q и нивото им е индикатор за обостряне на заболяването. Изследванията на докторантката потвърждават факта, установен за пръв път в лабораторията, в която е разработен дисертационния труд, че глобуларните участъци на C1q са също имуногенни и срещу тях се изработват автоантитела. Така C1q от молекула с антивъзпалително действие се превръща в автоантиген, потенциален провъзпалителен агент. Разработена е моделна система за имобилизирането на C1q и неговите глобуларни фрагменти, в присъствие на близначни йони, която позволява да се оцени връзката между конформацията и автоантигенността им. Изказана е интересна хипотеза за различната роля на антителата срещу колагеноподобния участък и срещу глобуларните участъци в патологичния процес, водещ до възникване на Лупусен нефрит. Приложен е богат арсенал от различни методични подходи, адекватно подбрани и експлоатирани умело. Прави впечатление стремежът на докторантката за задълбочено, многостранно изясняване на всяка находка и интерпретирането ѝ в светлината на данните, получени от други изследователи. Определено достойнство на работата е изследването на серуми от един и същи пациент, взети в различни фази на заболяването. Положени са много усилия да се събере статистически значима извадка от здрави донори (служещи за контрола) и пациенти с диагностициран, съгласно международните критерии, Лупусен нефрит. За всеки запознат не е тайна, че в български условия това, само по себе си, е извънредно трудна задача. Значимостта на експерименталните резултати се потвърждава от факта, че те са публикувани в авторитетни международни и български списания и докладвани на различни научни форуми.

Дисертационният труд съдържа експериментални резултати, които имат приносен характер. Изводите и приносите са формулирани ясно. Най-съществените оригинални научни приноси по мое мнение са:

Методични приноси:

- Създадена е моделна система с използване на близначни йони за индуциране на конформационни преходи в молекулата на C1q и глобуларните ѝ фрагменти.

- Серуми от рисковата група на клинично здрави бременни жени остроумно са използвани за изследване нивото и епитопната характеристика на анти-C1q антителата във фаза, предхождаща отключването на Лупус.

Теоретични приноси:

- Чрез създадената моделна система за имобилизиране на C1q и фрагментите ѝ в присъствие на близначни йони е показано директно, че конформационните промени повлияват автоантигенността на C1q.

- Не е намерена зависимост между нивото и антигенната специфичност на различните популации анти-C1q антитела и острата фаза на клинично проявен Лупусен нефрит.

- Показано е, че не само колагеноподобният участък, но и глобуларните участъци са имуногенни и имобилизирането на цялата молекула и на глобуларните ѝ фрагменти е съпроводено с повишаване на имуногенността им.

- Намерено е, че повишените титри на антиглобуларните антитела не са асоциирани с обострянето на Лупусния нефрит, а по-скоро са характерни за фазата, предхождаща клиничната изява на заболяването. Повишени титри на антиглобуларни автоантитела от IgG класа са характерни и за серуми от рисковата за отключване на Лупус група на бременни жени.

С приносен характер е и изказаната хипотеза, че при дадени обстоятелства в глобуларните фрагменти на C1q възникват неоепитопи, които могат да допринесат за отключване на автоимунен процес. Тя дава насока за допълнителни изследвания за потвърждаването или отхвърлянето ѝ.

Към труда могат да се отправят някои забележки:

- Получените резултати се базират на сравнително малка извадка от серуми, особено от групата на пациентите с Лупусен нефрит.

- От литературния обзор и конструирането на експериментите проличава, че докторантката познава добре различията в механизмите на взаимодействието на C1q и IgG в състава на имунните комплекси и взаимодействие между C1q и специфичните антитела спрямо различни участъци на молекулата. При написването на труда, обаче, е допуснато смесване на двете взаимодействия – напр. в текста към фиг. 27, 29 и 30 и на други места се говори за регистрирани антитела, а се работи с топлинно агрегиран IgG - модел на имунни комплекси.

- Резултатите от конкурентната ELISA не могат да бъдат тълкувани еднозначно, тъй като не е ясно по какъв начин са подбрани при експериментите концентрациите, съответно на глобуларните участъци, на препарата от сборния патологичен серум и C1q. За осъществяване на конкуренция е необходим голям молекулен излишък на конкурента. Освен това при използване на сборен препарат, получен от серуми съдържащи различни популации антитела не е ясно кой с кого се конкурира и не е неочаквано, че няма разлика в инхибиращата активност на трите глобуларни фрагмента. Посочените забележки не намаляват стойността на труда и той отразява резултати от важен и успешен етап на изследвания.

Заклучение. Представеният дисертационен труд третира актуален от теоретична и практическа гледна точка проблем. Съдържа съществени експериментални резултати, прецизно документирани, които са публикувани в авторитетни научни списания и са намерили отзвук в научната общност. При разработването му са приложени голям брой разнообразни съвременни експериментални техники, използвано е сътрудничеството с други специалисти и лаборатории.

Получени са значими експериментални резултати, които са интерпретирани задълбочено. Оригиначните научни приноси на труда, както и начинът на написване и оформяне на труда показват, че докторантката е изграден научен работник, дълбоко навлязъл в проблема. По мое мнение, представеният дисертационен труд отговаря напълно на изискванията за присъждане на образователната и научна степен „Доктор”. Имам лични впечатления от докторантката, която познавам добре от студентските ѝ години. Тя е изключително работлив, добросъвестен, мотивиран и всеотдаен млад специалист, който обича работата си.

Въз основа на всичко това си позволявам да представя на членовете на уважаемото Научно жури моето положително мнение относно присъждането на образователната и научна степен „Доктор” на Вишня Стойчева Стоянова.

Подпис:

(Доц. Тренка Аргирова Гетова)