

## СТАНОВИЩЕ

от доц. д-р Светла Петрова-Чанкова, Биологически факултет, СУ „Св. Кл. Охридски”

**ОТНОСНО:** Дисертационен труд за присъждане на образователната и научна степен “доктор” по професионално направление 4.3. Биологични науки (Молекулярна биология) на тема “Анализ на взаимодействието на C1q с IgG в норма и патология”

**Докторант:** Вишня Стойчева Стоянова, Катедра “Биохимия”, Биологически факултет на СУ „Св Климент Охридски

**Научен ръководител:** доц. д-р Светла Петрова-Чанкова

**Научен консултант:** доц. д-р Иванка Цачева

Вишня Стоянова завършва с пълно отличие спец. Молекулярна биология при Биологическия факултет на Софийски Университет и веднага след началото на магистърската степен на обучение започва изработването на дипломна работа в Катедрата по Биохимия под ръководството на гл.ас. д-р Иванка Цачева и доц. д-р Светла Петрова. Темата на дипломната й работа: “Анализ на серуми от болни с лупусен нефрит (LN) за присъствието на анти-C1q антитела, разпознаващи епитопи в глобуларните фрагменти на C1q молекулата”, отличната й защита и необходимостта от задълбочаване и разширяване на изследването, бяха и основните причини за прерастването й в дисертационен труд. Вишня Стоянова е редовен докторант по Молекулярна биология към Катедрата по Биохимия на БФ от 14.01.2008 год. и е отчислена с право на защита от 10.07.2011 год. Дисертационният труд на тема: „Анализ на взаимодействието на C1q с IgG в норма и патология” е апробиран на 18.10.2011 год. пред разширен Катедрен съвет.

Като ръководител на докторанта имах възможността пряко да наблюдавам научната подготовка, експерименталната работа и израстването на Вишня Стоянова като изследовател. Темата на дисертационния труд е тясно свързана с критичната роля на C1q в два процеса; 1) разпознаването на IgG в състава на имунни комплекси, като основен фактор в класическия път на активирането на комплемента; и 2) способността на C1q да проявява имуногенност при определни условия и да отключва преход от нормални в патологични състояния. През последните години много от функциите на C1q се допълват и обогатяват с нови познания за молекулните механизми, които трансформират C1q в автоантиген, индуциращ синтеза на антитела срещу различни епитопи от самата молекула. Поради това, изследваният проблем е особено актуален и изясняването на тези функционално-определящи механизми има, както

фундаментално, така и приложно значение. Проведеното научно изследване се опитва да предложи модели за някои от неизследваните белтък-белтъчни взаимодействия, в които участва C1q и които са определящи за превръщането ѝ в автоантиген. Темата е надграждане на многогодишния труд на групата по Молекулярна Имунология в Катедрата по Биохимия и конкретно на доц. д-р Иванка Цачева. За изработването на този дисертационен труд, имунологичните познания на Вишня Стоянова бяха подкрепени от нови познания в областта на биохимията и структурната биология, които ѝ позволиха до голяма степен да анализира и интерпретира експерименталните данни. Тя доказва на практика, че изследването на една изключително сложна и участваща в огромен брой различни взаимодействия молекула, като C1q, трябва да се провежда комплексно.

Дисертационният труд се стреми да разгледа принципното взаимодействие на C1q с IgG в няколко различни аспекта, които определят формалното му разделяне на отделни, но взаимосвързани части. От една страна, взаимодействието на C1q с IgG се разглежда фундаментално, като за тази цел Вишня Стоянова използва редица биохимични и молекулярно биологични методи, за да получи: пречистени C1q и IgG; рекомбинантните форми на отделните глави на C1q чрез експресията им в *E.coli*; колагено-подобния и глобуларния фрагменти на C1q (ензимно фрагментирани с пепсин), необходими, за да се установят местата на взаимодействие с изследваните лиганди; индуциране на конформационни преходи; конструиране на моделни системи за промените в конформационните състояния на C1q, свързани с отключването на автоимунен отговор срещу молекулата.

От друга страна, изследването на анти-C1q антителата в серуми от лупусно-болни и здрави бременни жени има и приложен характер, определен от необходимостта да се изясни взаимовръзката между C1q като антиген и отключването на автоимунно заболяване. За тази цел, докторантката извършва скрининг на 78 серуми от пациенти с лупусен нефрит и 31 серуми на здрави бременни жени, които ѝ позволява да детектира анти-C1q антитела, да направи епитопна характеристика и да установи, че: 1) тези антитела разпознават, както глобуларните, така и колагено-подобния фрагмент на C1q, т.е. и двата типа са имуногенни и имобилизирането им е свързано с повишаване на имуногенността; 2) епитопите са, както секвенционни, така и конформационни; 3) някои от епитопите се определят от цялата нативна молекула, а други са локализирани в по-малки нейни фрагменти; 4) антиглобуларни автоантитела са открити и в серуми на рисковата група от здрави бременни жени; и 5) липсата на анти-C1q антитела от клас IgM. Един от най-важните резултати се отнася до увеличаването на степента на хидрофобност на глобуларната глава ghV на C1q, която е пряко свързана с нейната автоантигенност. Много ценно също е проследяването на серуми от един и същи пациент, взети в различни фази на заболяването, което позволява да се установи ролята на анти-C1q антителата в тези фази.

Съществена част от дисертационния труд е свързана със създаване на моделни системи, използващи различни форми на цвистерийонни съединения, които да имитират нативни условия за индуциране на конформационни преходи в цялата C1q молекула или отделни нейни фрагменти. Тези експерименти, проведени за първи път и подкрепени от изследването на серумни проби, имат методичен и фундаментален принос, защото предлагат конформационен механизъм за отключване на автоантигенността на C1q. Принос с приложен характер в дисертационния труд е откритието на повишени титри на анти-C1q антитела при здрави, бременни жени, което дава основание да се формулира хипотеза за способността на C1q да разкрива нео-епитопи при определени условия, които отключват автоимунен отговор. Изследването може да се използва за създаването на нов терапевтичен подход, ценен за диагностициране и проследяване на автоимунни заболявания.

По темата на дисертацията са публикувани три научни труда в списания с IF: *Mol. Immunol.* (IF – 3.5), *Z. Naturforsch.* (IF -0.8) и *Compt.Rend. Acad.Bulg.Sci.* (IF – 0.219). Забелязан е 1 цитат. Има също публикувани две статии в български списания без импакт фактор. Резултатите са представени на седем международни и национални конференции.

**Заклучение:** Дисертационен труд представя комплексно изследване на ролята на C1q в норма и патология, чиито резултати са прецизно анализирани и публикувани в авторитетни научни списания. Като научен ръководител на докторантката бях впечатлена от проявените: работоспособност, мотивация, дисциплина, търпение, организираност и методична педантичност, които позволиха на Вишня да извърши успешно огромен брой изследователски задачи. Тя прояви умение да планира точно експериментите си, критично да анализира получените резултати, да ги използва за определяне на следващите стъпки и да формулира логични изводи. Смятам, че Вишня Стоянова изпълни, повече от успешно, поставената в дисертацията цел и с придобития си методичен опит и познания би се справила с всеки молекулярно-биологичен проблем.

Въз основа на гореизложеното, си позволявам да представя на Уважаемите Членове на Научното жури, моето положително становище относно присъждането на образователната и научна степен „Доктор” на Вишня Стойчева Стоянова.

15.12.2011г.

Подпис:

(доц. д-р Светла Петрова)