

РЕЦЕНЗИЯ

от доц. д-р Иванка Георгиева Цачева,

Лаборатория по молекулярна имунология,

Катедра Биохимия, Биологически факултет,

Софийски Университет "Св. Климент Охридски"

на дисертационен труд, подготвен за присъждане на образователната и научна степен

'доктор'

с автор: **Силвия Любенова Брадянова**

Тема: Функционално потискане на автореактивни Т клетки чрез антицялова терапия при миши и хуманизиран NSG модели на Системен Лупус Еритематозус

с научен ръководител: проф. д-р Андрей Чорбанов

по направление 4.3. Биологически науки (Имунология)

Дисертационният труд на Силвия Брадянова е посветен на създаването на терапия при Системен лупус еритематозус (СЛЕ), която действа избирателно и специфично, основавайки се на молекулярния аспект на лупусната патология.

СЛЕ е хронично автоимунно заболяване на възпалителна основа, при което се наблюдава имуномедирано увреждане на множество органни системи. Приблизително 3.4 милиона души по света са диагностицирани със СЛЕ, 90% от които са жени, а около 400 000 годишно са новите случаи в световен мащаб. Приблизително 40% от хората със СЛЕ развиват лупусен нефрит, а около 10% от хората с лупусен нефрит развиват краен стадий на бъбречно заболяване за период от 10 години. Към момента основната цел на лечението е да се постигне ремисия, характеризираща се с минимални симптоми, ниски нива на автоимунни възпалителни маркери и минимални системни нужди от глюкокортикостероиди, докато пациентът се лекува с поддържащи дози имуномодулиращи или имunosупресивни лекарства.

Глюкокортикостероидите и хидроксихлорохинът са стандарт за лечение на СЛЕ и се свързват със значително намаляване на смъртността. В допълнение се прилагат индивидуализирани имunosупресивни средства като азатиоприн, микофенолат мофетил и циклофосфамид, както и белимумаб (човешко моноклонално антицяло срещу BAFF) и анифролумаб (човешко моноклонално антицяло срещу рецептора за Interferon α/β) при активен СЛЕ и при лупусен нефрит.

Хроничният характер на заболяването и хетерогенната проява на симптоми изискват широк набор от терапевтични средства, които да се комбинират персонализирано за различни периоди от терапията. В този смисъл дисертационният труд е разработен в изключително актуална и постоянно отворена тема.

Силвия Брадянова е представила дисертация, която обхваща 114 страници и която следва класическата структура – увод, литературен обзор, цел и задачи, материали и методи, резултати, дискусия, изводи и приноси.

Уводът аргументирано представя проблема, на който е посветена експерименталната разработка. Литературният обзор представя съвременното схващане за молекулните механизми на централна толерантност и известните към момента нарушения в тях, които могат да доведат автореактивност. Дискутирани са примери на органно-специфични и системни автоимунни заболявания. Най-голяма тежест има представянето на СЛЕ като мултифакторно заболяване по отношение на отключването в резултат на комбинация от генетични, хормонални, епигенетични, имунорегулаторни и фактори на околната среда. Освен нарушенията в механизмите за централна толерантност при СЛЕ са разгледани и известните към момента нарушения в молекулните механизми за индукция и поддържане на периферна толерантност. Нарушения в регулацията на Т-клетъчната функция са представени като водещи в патогенезата на СЛЕ.

Анексините, семейство фосфолипид-свързващи белтъци, са охарактеризирани структурно и функционално. Анексин А1 (AnxA1) е разгледан като ендегенен имунорегулатор на имунните клетки при възпаление и в частност при Т-клетъчната активация.

Литературният обзор съдържа още преглед на диагностицирането и подходите за лечение на системен лупус с обяснения за механизма на действие на кортикостероидите, хидроксихлорокина, използваните имunosупресори и моноклонални антители.

Напредъкът в разбирането ни за молекулната основа на лупусната патогенеза се дължи до голяма степен на създадените миши модели, в които се развива или се индуцира поява и развитие на лупусоподобна патофизиология. Силвия е представила систематизирано и с всички важни характеристики спонтанните и индуцирани миши модели, използвани в експерименталната имунология за изучаване на различни аспекти на СЛЕ на молекулно, клетъчно и органно ниво.

Литературният обзор на Силвия като цяло представлява отлично балансиран текст като съдържание, включени теми и фактология, демонстрира нейната отлична осведоменост и умение да систематизира и представя в есенциален вид информация от множество източници по отношение на разглеждания проблем.

В основата на разработения дисертационен труд са поставени две амбициозни цели:

- да се потвърди ролята на AnxA1 за развитието на СЛЕ и да се изследва имуномодулиращата му функция чрез използването на анти-AnxA1 антитяло в два експериментални миши модела, спонтанен (MRL/lpr) и пристан-индуциран в Balb/c.
- да се потвърди терапевтичният потенциал на анти-AnxA1 антитялото върху автореактивни човешки Т лимфоцити и появата на лупосоподобни симптоми в хуманизиран модел в NOD-SCID gamma (NSG) мишки.

За осъществяване на цялостния замисъл на комплексния експериментален дизайн са поставени две групи задачи, всяка от които е конкретно обвързана с постигането на съответната цел.

В глава материали и методи са представени използваните препаративни и аналитични методи – богат набор от молекулярно-биологични, имунологични, биохимични, клетъчни и др. Методите са описани прецизно, съобразно стила на научните публикации и с необходимите параметри и условия, които позволяват да бъдат възпроизведени от всеки заинтересован експериментатор. Методите са подбрани адекватно на поставените задачи и така, че да се осигурят експериментални данни, получени по принципно допълващи се подходи за подкрепа на една и съща закономерност.

В резултат на проведените експерименти е установена повърхностна експресия на ANX A1 при лимфоцити и в двата миши модела (MRL/lpr, пристан-Balb/c), като и в двата случая по-голям е делът на CD3⁺CD4⁺ клетките. Установени са множество повлиявания при третиране с анти-ANX A1 - инхибиране Т-клетъчната активация и в двата миши модела (като количеството антитяло, предизвикващо максимален ефект е различно - 100 ng/ml при пристан-Balb/c, 250 ng/ml при MRL/lpr); инхибиране на Т-клетъчната пролиферация; намаляване броя на плазматични клетки, които синтезират антитела срещу двДНК; намаляване на серумните нива на анти-двДНК и протеинурия, както и на

други специфичности автоантитела, характерни за системен лупус; модулиране на генната експресия на IL-10; потискане на лупусната симптоматика.

Влиянието на третиране с анти-ANX A1 е подкрепено с експериментални данни от хуманизиран с човешки РВМС от СЛЕ пациенти миши модел. Установена е повърхностна експресия на ANX A1 при човешки Т и В лимфоцити; инхибиране на Т-клетъчната активация и пролиферация; намаляване на плазматичните клетки, синтезиращи анти-двДНК автоантитела, както и намаляване на серумните нива на тези автоантитела; намаляване на IgG автоантитела срещу нуклеарни антигени и увеличаване на IgM антителата срещу двДНК, евДНК и РНК; трайно повишаване на експресирания IL-10; потискане на лупусната симптоматика. Резултатите, получени в хуманизирания модел за човешките лимфоцити и автоантитела корелират с резултатите, получени при мишите модели на спонтанен и индуциран лупус. Това от една страна потвърждава адекватността на подбраните миши лупусни модели, а от друга – ролята и значението на ANX A1 като аутоимунен имуномодулатор при транслирането на резултатите върху човешката физиология. Имуномодулаторната функция на ANX A1 се оказва многопосочна, като се има предвид, че при спонтанния миши модел (MRL/lpr) се проявяват нарушения основно в механизмите на централна толерантност, а при пристан-индуцирания (Balb/c) миши модел се проявяват нарушения и в механизмите на периферна толерантност. Трите използвани миши модела на СЛЕ в дисертационния труд представят нов подход за потискане на взаимодействието между автореактивните лимфоцити по време на прогресията на заболяването. Ниска доза анти-ANX A1 успешно ограничава прогресията на симптомите на заболяването и патологичното увреждане на бъбреците, като по този начин се проявява нов потенциален механизъм за терапия на пациенти с лупус.

Резултатите в тази глава са представени чрез 30 фигури с високо качество и необходимия статистически анализ. Те са дискутирани изчерпателно и паралелно с публикувани данни на международни изследователски групи, работещи по сходна проблематика, като ясно е показано съгласие на новополучените резултати в работата на Силвия с вече възприети схващания по темата. Дискусията още веднъж демонстрира отличната теоретична подготовка на Силвия не само в началото на експерименталния проект, но и повишеното ѝ образователно ниво в хода на работата, както и развитата способност да осмисля в пълнота резултатите като зрял изследовател. Посочени са 193 литературни източника,

обхващащи периода 1978 – 2023 г., което е показателно за усърдие и отговорност при подхождането към търсене на решение при дефиниран научен проблем.

Формулирани са общо 12 извода – седем, въз основа на резултатите с двата миши модела и пет, въз основа на резултатите от хуманизирания модел. Приемам резултатите като адекватно представящи включените в дисертационния труд експериментални данни.

Работата на Силвия Брадянова има също така приноси с фундаментален и научно-приложен характер, които също приемам като коректно формулирани.

Във връзка с дисертацията са посочени две публикации – едната е Q1 от 2021 г. с водещ автор Силвия Брадянова, другата е Q2 от 2020 г., в която Силвия е съавтор. И в двете публикации научният ръководител проф. Андрей Чорбанов е кореспондиращ автор. Статията от 2020 г. има 16 цитата, което е показателно и за международно признание на постигнатите резултати. В подкрепа на последното са 12 участия на Силвия в национални и международни научни форуми.

Дисертационният труд е написан на висок научен стил. Оформлението е добро с изключение на някои правописни грешки на различни места в текста.

В заключение бих искала да изразя отличните си впечатления от представения ми за рецензиране дисертационен труд, който показва Силвия Брадянова като изграден изследовател с аналитичен похват и експериментални умения с широк обхват. Дисертационният труд и публикациите, свързани с него, надхвърлят изискванията за придобиване на **образователната и научна степен „Доктор”**, което ми дава основание убедено да подкрепя присъждането на степента на Силвия Любенова Брадянова.

12.07.2024 г.

София

Подпис:

Иванка Цачева