

# СТАНОВИЩЕ

от

**доц. д-р Екатерина Иванова Иванова -Тодорова, дм**  
Катедра: Клинична имунология, МУ-София, УМБАЛ „Св. Иван Рилски“-София,  
Лаборатория по клинична имунология

На

**Дисертационен труд** за присъждане на образователна и научна степен „Доктор“,  
Професионално направление 4.3. „Биологически науки“,

Докторска програма, научна специалност „Имунология“

**Автор: Никола Ралчев Ралчев**

**Институт по Микробиология „Стефан Ангелов“, БЪЛГАРСКА  
АКАДЕМИЯ НА НАУКИТЕ**

**Тема: ПОТИСКАНЕ НА АНТИГЕН-СПЕЦИФИЧНИ В ЛИМФОЦИТИ ЧРЕЗ  
ПРОТЕИНОВИ ИНЖЕНЕРНИ МОЛЕКУЛИ ПРИ РЕАКЦИИ НА  
СВРЪХЧУВСТВИТЕЛНОСТ**

**Форма на докторантурата: редовна**

**Научни ръководители: Проф. Андрей Иванов Чорбанов, дб**

## **1. Представяне на процедурата и Докторанта**

Представеният ми комплект материали в електронен вид за Докторанта (Никола Ралчев Ралчев) е в съответствие с Чл. 74.1 от процедурата за придобиване на ОНС „доктор“ и е съгласно Правилника за условията и реда за придобиване на научни степени и заемане на академични длъжности в ИмикБ-БАН. Комплектът включва всички изисквани документи.

Докторантът Никола Ралчев е завършил бакалавърска степен по „Молекулярна биология“ към СУ „Св. Климент Охридски“, 2018 година. След това своевременно започва Магистърската си степен по „Клетъчна биология и патология“ и защитава дипломна работа на тема „Молекулярно характеризирание на два Bcl-2 хомолога кодирани в генома на морския таралеж *Strougylocentrotus purpuratus*“ с отлична оценка. Това показва една задълбочена последователност и определено желание да се развива в областта на клетъчната и молекулярна биология. Затова говори и фактът, че Никола Ралчев има няколко стажа по време на бакалавърската и магистърска програми. Първият е в Лаборатория по Експериментална имунология, Институт по Микробиология, Българска Академия на Науките и е свързан с разработване на терапия при животински модели на алергия към домашен прах, което в последствие той доразвива в детайли в дисертационния си труд. Това определено му помага в изучаване и усвояване до съвършенство на методи свързани с култивиране, характеристика на различни клетъчни видове, както и надграждане на методичните умения излизащи от рамката на клетъчното култивиране и биохимичните процеси. Вторият му стаж е в Лаборатория "Signaling, metabolism and tumor progression" Cancer Research Center of Lyon, CRC, Франция и е на тема: „Изследване не-апоптотичните функции на протеини от Bcl-2 семейството“.

Изучаването на Bcl-2 семейството е част от дипломната му работа по магистърската му програма и определено говори за една целеустременост и желание на докторантът да бъде максимално прецизен в разработването и представянето на научната тема. Още същата година 2020 след придобиване на магистърска степен Никола Ралчев е зачислен за редовен докторант към ИмикБ-БАН, през 2021 става и асистент към Лаборатория по Експериментална имунология ИмикБ-БАН. Тази детайлна последователност се вижда и в представения ми за становище дисертационен труд.

Никола Ралчев владее свободно английски език (B2 ниво CAE-Certificate in Advanced English), което му позволява да има достъп до научни източници в световната база данни по зададения в докторантурата научен проблем. Като доказателство за научния интерес и желанието за развитие като учен, както и качеството на научната продукция са и множеството участията в научни форуми, научни проекти, публикациите не свързани пряко с темата на дисертационния труд, H индекс: Scopus – 3, както и получените награди през годините.

Свързани с докторантурата са 9 участия в научни форуми и 2 публикации с Impact factor. Също така, има приложени сертификати от успешно издържани курсове, като анализирайки справката за получени кредити за оценка и подготовка на Докторанта свързани с учебната и научно-изследователската му дейност, както и допълнителните критерии за израстване на академичния състав в ИмикБ-БАН, определено смятам, че Никола Ралчев не само покрива, но и надхвърля необходимите кредитни точки. В полза на всичко гореизложено са и получените 4 награди за периода от 2022 до 2024 на Докторанта.

## **2. Актуалност на тематиката**

През последните 100 години и особено в последните 2-3 поколения от населението на урбанизираните страни, към които спада и България, рязко се увеличават случаите на т.нар. „болести на цивилизацията“ с хроничен ход. Това са атеросклерозата, есенциалната хипертония, метаболитните нарушения, автоимунните заболявания и не на последно място атопията и проявите на алергия. Причината за това се дължи на т. нар "стерилен начин" на живот използващ ксенобиотици, промяна в хранителните навици и липсата на съответни генетични адаптационни механизми, което води до значителна промяна на фино настроения човешки метаболизъм. Има данни за повишено производство на реактивни кислородни радикали и оксидативен стрес, развитие на хиперинсулинемия и инсулинова резистентност и абнормно активиране на симпатикосовата нервна система, както и ренин-ангиотензинова система при “*western lifestyle*” начин на живот. Всичко това увеличава склонност на индивида и/или семейството за развитие на сенсибилизация и производство на антитела от клас IgE в отговор на обичайна експозиция на алергени. Натрупват се все повече данни в подкрепа на ролята на IgE в автоимунитета при пациенти с автоимунен тиреоидит и лупус еритематозус. А от 2016 година започва да се говори за хистаминов интолеранс, като от 2011 година Европейският орган за безопасност на храните (EFSA) публикува научен доклад, в който предупреждава, че нивата на хистамин, открити в храни, предлагани на пазара в страни от Европейския съюз, могат да водят до риск за здравето на потребителите. Всички тези факти правят представените в настоящия дисертационен труд миши модели на химерно антитяло насочено срещу инхибиращи миши FcγRIIb или човешки CR1 върху алерген-специфични Der p1 B клетки изключително актуален. Получените резултати дават още една възможна алтернатива за модулиране не само на алерген специфичния B клетъчен имуноен отговор, но и евентуални ползи за допълнителна терапия при автоимунни пациенти позитивни за специфични IgE или IgG1 антитела срещу автоантигени.

### 3. Оценка на дисертационния труд и приносите изказани в него

Дисертационният труд е представен в 9 раздела на 106 страници, в прегледен и стегнат вид. Онагледен с 29 фигури и 2 таблици – отлично форматиран. Използваната литература в раздел „Библиография“ включва 211 литературни източници, като една значима част са от последните 10 години. Считаю, че предоставеният ми за разглеждане дисертационен труд отговаря на изискванията за достатъчен обем и е правилно структуриран.

**Увода** е формулиран добре, като са очертани основните опорни точки, които ще бъдат разисквани в дисертационния труд и някак плавно се прави преход към литературния обзор.

**Литературният обзор** е правилно структуриран и построен в съответствие с разработваната тема и обхваща 33 страници. Цитираните в него научни статии от последните години, подкрепят актуалността на избраната тема. Описват се последователно видовете алергични реакции, имунопатогенетичните механизми при тях, видове алергени и пътищата за постъпването им в организма. Интересна и интригуваща е т.2.4. „Еволюция на Th2 отговора и теории за развитието на алергичните реакции“. Постепенно и плавно се преминава към алергични реакции срещу домашен прах и акари, както и терапевтични стратегии. Не мога да не отбележа прецизността на фигурите и таблицата в научния обзор, както и оригиналния начин на заключение озаглавен: „Хипотеза и предложение за нов терапевтичен подход, целящ селективното елиминиране на алерген-специфични В клетки чрез протеинови инженерни молекули.“ Тук се вижда и ролята на научният ръководител за задаване на актуална тема с получени резултати оценени подобаващо от международната научна общност.

Имам няколко забележки към този раздел и въпрос:

1. Препоръчвам терминът „сенситизация“ използван в т.2.3.1 и т.2.3.2 да се замени с клинично приетия термин сенсibiliзиране.
2. В т.4 „Терапевтични подходи при алергия“ е добре да се коментира и ролята на H2 – блокерите.
3. Добре е да се опише, а не само цитира алтернативната функция на мишия CR1 при В лимфоцитите (стр.37). Определено у четящи буди интерес факта, че мишия CR1 не е свързан с инхибиторен сигнал на BCR-зависимото активиране.
4. Оклудин и клаудин-1 са молекули свързани и с чревна пропускливост и заболявания като болест на Крон и улцерозен колит, какъв би бил вероятният имунопатогенетичен механизъм при попадане на Der p1 в интестиналната мукозата, особено при заболявания като атопичен дерматит или астма?

**Целта** е добре формулирана и в съответствие с поставената темата на дисертационния труд. **Поставените задачи** (4 на брой) са ясно дефинирани и отговарят на целта. Смятам, че са напълно достатъчни и са отлично реализирани и коментирани в дисертационния труд.

Раздел **Материали и методи** показва компетентността на Докторанта и личния му принос към дисертационния труд. Разделът е написан изключително систематизирано и едновременно с това подробно. Разнообразието от използвани методи и тяхната принадлежност към различни области на клетъчната, молекулярната биология, клетъчното инженерство и имунология показват стойността на предложения ми за становище дисертационен труд, както и капацитета на Никола Ралчев да борави технически и обобщава данни от получените резултати. Тук се вижда и приемствеността в използване на добре разработени и международно признати методи и химерни

молекули, които са „запазена марка“ на екипа, който ръководи научният ръководител на Докторантът.

Имам една забележка към този раздел:

В т.1.8 „Фенотипизиране на белодробни инфилтрати“ – след получаване на едноклетъчна суспензия, живите клетки са изброени чрез камера на Бюркер. Добре би било да се уточни как е установена тази виталност, например оцветяване с 0.4% разтвор на багрилото Trypan blue.

**Резултатите** от направените експериментални изследвания са представени на 22 страници, отговарят на поставените задачи и следват последователността в описаните методи. Онагледени са много добре с прецизно направени 17 фигури. Описани са в детайли и с необходимата критичност, както по отношение директното и индиректно влияние на Dp52-71 химерите върху лимфоцитните субпопулации, клетки на неспецифичния имунен отговор, молекули част от хуморалния имунитет, анализ на провъзпалителни протеини в BALF, а също *in situ* анализ на белодробна тъкан от експерименталните модели.

Това показва умело боравене и отлични познания на Никола Ралчев в областта на експериментална имунология свързана с миши модели, една доста трудна и уникална по своята същност научна ниша. Така описаните голям брой резултати са представени компактно и компетентно. По мое мнение те са интересни с безспорна научна и практическа стойност и съответстват на поставената цел в дисертационния труд.

В раздел **Обсъждане**, докторантът успешно защитава идеята на опитните постановки и обсъжда задълбочено и критично получените резултати в сравнителен план с известните данни в световната литература. Например, много умело и логично се коментира „*epitope spreading*“, като вероятна възможност за промяната в алерген специфичния ИгЕ имунен отговор. Прави впечатление всеобхватността на конструирания експериментален модел „хуманизиран миши модел на алергия към HDM и „хроничен миши модел на алергия“, което оставя у четящи идеята за добре замислен и перфектно изпълнен научен проект. Смятам, че докторанта Никола Ралчев се е справил отлично с този раздел.

Направени са общо 10 **Изводи**, като ясно са разделени в две подточки, в зависимост от използвания миши модел и химерно антияло. Те следват логично резултатите и обсъждането, като синтезирано обобщават големия по обем и разнороден като методология дисертационен труд. **Приносите** са обединени в 2 категории с фундаментално значение и с научно-приложен характер. Показват ясно значимостта и иновативността на получените научни резултати, както и безспорната актуалност на дисертационния труд, не само в научната сфера, но и за целите на практическата медицина.

#### **4. Оценка на публикациите и личния принос на Докторанта**

Във връзка с дисертационния труд са представени 2 публикации. Първата в Scandinavian Journal of Immunology с Journal Rank: JCR – Q2; Impact Factor – 3.7 (2022), а втората в International Journal of Molecular Sciences с Journal Rank: JCR - Q1; Impact Factor – 4.9 (2023). Това говори за стойността на резултатите получени в дисертационния труд и високата оценката на международната научна общност имайки предвид квантилата на списанията и Impact Factor-а. И в двете публикации Никола Ралчев е първи автор, което ясно и недвусмислено доказва приносът на Докторанта в изработването и анализа на получените резултати в настоящия дисертационен труд.

Резултатите са представени на общо 9 национални и международни научни форуми. Не мога да не отбележа и 4-те награди, допълващи безспорни качества на докторанта.

Затова личната ми оценка за научната стойност на дисертационния труд на Никола Ралчев е много висока (отлична).

**5. Автореферат** – представен е на 58 страници, съдържа най-важните и съществени части от цялостния дисертационния труд и е съобразен с Правилника за условията и реда за придобиване на научни степени и заемане на академични длъжности в ИмикБ-БАН.

#### **6. Заключение**

Предоставеният ми за становище дисертационен труд представлява една завършена, прецизно изпълнена и обоснована перфектно научна разработка. Актуалността на получените научни резултати, разнообразието на използваните методите, съчетанието им така, че да се получат публикуеми резултати заслужава висока оценка. Докторантът Никола Ралчев се представя като квалифициран млад учен с разностранни умения, капацитет и творчески хъс да постигне всичко това. По мое мнение получените резултати в дисертационния труд биха били една начална стъпка към нов терапевтичен подход свързан с модулиране на специфичния В-клетъчен имуен отговор при множество алергични, автоимунни и хронични инфламаторни състояния.

Това ми дават основание да считам, че дисертационния труд на Никола Ралчев отговаря напълно на Закона за развитие на Академичния състав в Република България и на правилника на ИмикБ-БАН за присъждане на образователна и научна степен „Доктор“. Въз основа на гореизложеното, убедено давам своята **положителна оценка** на дисертационния труд, автореферата, както и получените резултати и приноси и предлагам на уважаемите членове на почитаемото научно жури да присъдят **образователната и научна степен „Доктор“** на **Никола Ралчев Ралчев** в докторска програма „Имунология“.

25.02.2025

Изготвил становището:.....  
доц. д-р Екатерина Иванова-Годорова, дм