

РЕЦЕНЗИЯ

от доц. Петя Асенова Димитрова,

Лаборатория по експериментална имуноterapia, Департамент по имунология, Институт по микробиология „Стефан Ангелов“, Българска академия на науките

на дисертационен труд за присъждане на образователната и научна степен 'доктор'

професионално направление: 7.1 Медицина

докторска програма: **Имунология**

Автор: Д-р Мартина Радославова Божкова

Форма на докторантурата: редовна форма на обучение

Катедра: Катедра по медицинска микробиология и имунология „Проф. д-р Елисей Янев“, Медицински факултет, Медицински университет – Пловдив

Тема: Проучване на В-клетъчната имунна памет при COVID-19 и поствакцинален имунитет

Научен ръководител: Доц. д-р Велизар Шиваров, дм

1. Общо представяне на процедурата и докторанта

Д-р Мартина Радославова Божкова е представила комплект материали на хартиен/електронен носител в съответствие с чл.70 (1) от I.Раздел. Придобиване на образователна и научна степен „ДОКТОР“ и научна степен „ДОКТОР НА НАУКИТЕ“ в МУ-Пловдив; Правилник на МУ-Пловдив от 28.01.2021 г. и включва следните документи: Заявление до Ректора на МУ-Пловдив за разкриване на процедурата за защита на дисертационен труд, автобиография в европейски формат с подпис на докторанта, нотариално заверено копие от диплома за висше образование, заповеди за зачисляване и отчисляване с право на защита, заповед за провеждане на изпит от индивидуалния план и съответен протокол за издържан изпит или докторантски минимум по специалността, протокол от апробация, дисертационен труд, автореферат, списък на научните публикации, участия във форуми и декларация за оригиналност.

Докторантът е приложил **три публикации по темата на дисертацията.**

2. Кратки биографични данни за докторанта

Д-р Мартина Радославова Божкова е родена на 29 юли 1994 г. в гр.Пловдив. Завършва медицина с отличие през 2019 г. в Медицински университет – гр.Пловдив. От октомври 2020 г. работи в катедра „Медицинска микробиология и имунология“ „Проф. д-р Елисей Янев“, Медицински факултет, Медицински университет – гр.Пловдив, като асистент. От 2022 г. е записана в редовна докторантура към катедрата. През декември 2024 г. придобива специалност „Клинична имунология“.

3. Актуалност на тематиката и целесъобразност на поставените цели и задачи

COVID-19 пандемията представляваше огромно предизвикателство, както по отношение на изследване на вируса, неговите мутации и механизма на репликация и репродукция, така и по отношение на проучване на имунния отговор при тежки и леки инфекции и с оглед въвеждането на ваксинация и ефективна терапия. В цял свят вкл. и в България обществото бе разделено „за и против“ ваксинацията срещу SARS CoV-2, имаше и спекулативни хипотези, базирани на липса на данни, които доведоха и до

директни последствия – висока смъртност и тежко протичане на инфекциите с честа поява на пост-ковид синдром. С оглед на това едно системно и по-задълбочено проучване на паметовия имунитет в българската популация и данни относно изграждане на колективен имунитет е особено значимо, като може да даде важна информация и методологична подготовка при нова епидемия/пандемия и за бърза оценка на имунния отговор при ваксинация. Въвеждането на иРНК ваксините дава възможност за нов и иновативен подход за индуциране на антиген-специфичен В и Т клетъчен имуен отговор. Въпреки това все още не е ясно дали ваксинацията и преболедуването от инфекция разширяват достатъчно В и Т клетъчната хетерогенност едновременно с В и Т-клетъчния репертоар, дали има пластичност в паметовия В клетъчния отговор и дали това би дало отражение при хибриден имунитет, при ваксинация на преболедували индивиди или дали това има отношение към появата на пост-ковид синдром. В този аспект представената дисертация е изключително актуална значима.

4. Познание на проблема

Литературният обзор с описание на състоянието на проблема включва 2 обобщаващи фигури за фазите в развитието на В-лимфоцитите и за представяне на антиген-зависимата фаза от развитието на В лимфоцитите в герминативните центрове на лимфните фоликули и 3 информативни таблици за фенотипните характеристики на основните субпопулации В клетки, предимствата и недостатъците на различни техники за изследване на антиген-специфични В лимфоцити и имунни дефицити, свързани с нарушено формиране на паметови В клетки. Д-р Мартина Божкова систематизира задълбочено най-новите изследвания за имунологичната памет и в частност паметовите В лимфоцити, като използва над 80% източници, публикувани през 2025 г. Отлично впечатление прави включването на новите данни за наличие на имунна памет и възможност за „трениране“ на вродения имунитет. Обзорът показва отлично познание на състоянието на проблема.

5. Методика на изследването

В дисертацията на д-р Мартина Божкова прави впечатление прецизният подбор на времеви интервали при дизайн на проспективното надлъжно изследване на двете кохорти – заразени с вирус и ваксинирани. При ваксинираните са включени коректно времеви интервали преди инжектиране и при второ поставяне на ваксината (T0) за определяне на базовото ниво, и след това времеви интервали са съответно след 1, 6 и 12 месеца (след втора доза/от проявата на клиничните симптоми). Групите с броя на включените лица също е отбелязан. В изследването са дефинирани 4 групи – група 1: ваксинирани с BNT162b2 mRNA (Pfizer-BioNTech), 2: ваксинирани с mRNA-1273 (Moderna), 3 - преболедували със SARS-CoV-2 инфекция (положителен RT-PCR) и 4-здрави донори.

За определяне на anti-SARS-CoV-2-специфични RBD-IgG чрез ELFA е използван надежден кит с добра чувствителност при PCR позитивни пациенти с клинични симптоми на SARS-CoV-2. Счита се, че при кита има ниска кръстосаната реактивност, поради слаба хомология и структурна разлика в RBD с други коронавируси (J Clin Microbiol 59: e02292-20. <https://doi.org/10.1128/JCM.02292-20>). За определяне на неутрализиращите антитела срещу SARS-CoV-2 е използван също надежден кит GenScript sPass™, който симулира взаимодействие между вирус-гостопроемник и е независим от изотипа на антителата.

Използваните техники Т- или В-spot са добре описани и в опитите са включени нужните контроли. Впечатление прави, че д-р Мартина Божкова е положила доста усилия за постигане на прецизен мултипараметричен флоуцитометричен анализ - използваните антитела са титрирани преди същинския опит, както и са оптимизирани условията при използване на тетрамерите във флоуцитометрията. Стратегията за ограждане при флоуцитометричния анализ е коректна с обособяване на плазматични и паметови В лимфоцити, последвано от разграничаване на транзиторните (преходни) и идентифициране на IgG⁺ S1-специфичните паметови В-лимфоцити.

Статистическата обработка е адекватна, прецизна и показва интегритет при обработка на данните.

6. Характеристика и оценка на дисертационния труд

Дисертацията е структурирана с характеристиките за дисертационен труд глави - увод, описание на състоянието на проблема, цел и задачи, резултати, дискусия, изводи и приноси.

Дисертацията има поставена цел да се изследва динамиката и продължителността на хуморалния и паметовия В клетъчен имунен отговор след преболедуване и ваксинация с иРНК ваксини срещу SARS CoV-2. Формулирани са ясно пет задачи.

В глава Материали и методи са описани добре използваните консумативи и методики, което позволява повторемост на изследванията.

Дискусията на резултатите показва зрялост и дълбочина, с критичен поглед върху получените резултати.

Изводите са ясно и коректно формулирани на базата на получените резултати.

7. Приноси и значимост на разработката за науката и практиката

Най-значимият принос според мен от дисертацията е дългосрочното проследяване на специфични паметови В-лимфоцити след приложение на две различни иРНК ваксини (BNT162b2 и mRNA-1273) и сравнението с естествена инфекция със SARS-CoV-2 в българска популация, като се демонстрира че BNT162b2 и преболедувалите лица имат по-изразена динамика и вариабилност на дълготрайната памет, а mRNA-1273 поддържа по-хомогенна памет. Изследването включва и данни за Т клетъчната реактивност в българската популация при ваксинирани и преболедували лица.

В дисертацията на д-р Мартина Божкова се прилага съвременен начин за обработка на данните, което осигурява повторемост и гарантира, че предложената платформа за оценка на В клетъчна хетерогенност и антиген-специфичен паметов В-клетъчен отговор има потенциал за по-многогранно приложение:

- Адекватна оценка на В клетъчната хетерогенност и паметовия В клетъчен имунен отговор в популацията при нова епидемия/пандемия.
- Оптимизиране на ваксинационната стратегия при различни групи от пациенти и персонализирането и според възраст, имунен статус и предходни инфекции.
- Анализ на В клетъчната хетерогенност и паметовите В клетки при различни подтипове пациенти със сепсис, дефинирани според степента и профила на активизиране на вродения имунитет.
- По-широк скрининг при инфекции с едновременно проследяване на хетерогенността в В клетъчния пул и В клетъчния репертоар.
- Приложение на този анализ за оценка на популационния имунитет при прилагане на нови иРНК ваксини включително AI моделиране на имунния отговор.
- Адаптиране на този анализ за оценка на хибриден имунитет и при изследване на пост-ковид синдром.

8. Преценка на публикациите по дисертационния труд

Д-р Мартина Божкова има 3 публикации по темата, в които е първи автор. Основна част от данните са публикувани в реномираното списание *Vaccine* в Q1 и импакт фактор 5.5, което подкрепя оценката ми за високото ниво на изследванията в дисертацията. Методологията на изследването е публикувана в реферирано списание *Biotechnology & Biotechnological Equipment* с Q2 и при описание на клиничен случай в списание *Cureus*.

9. Лично участие на докторанта(ката)

В дисертационния труд получените резултати са оригинални и демонстрират личната заслуга на докторанта за представения труд. В публикациите по дисертацията, д-р Мартина Божкова е първи автор, като нейната роля в изследванията и нейната лична заслуга – за концепция, събиране и обработка на данни са описани в секция *Author Contributions* във всяка статия.

10. Автореферат

Авторефератът е изготвен според изискванията и представя стегнато основните резултати, изводи и приноси в дисертацията.

11. Критични забележки и препоръки

Критични бележки са свързани с използването на някои термини – например гейтинг може да се замени с ограждане.

12. Лични впечатления

Няма.

13. Препоръки за бъдещо използване на дисертационните приноси и резултати

В бъдеще би било интересно оценката на В клетъчната хетерогенност, паметовия В клетъчен имунен отговор да се анализира в контекста на В клетъчния репертоар и повишената полиреактивност на антителата при инфекции.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Дисертационният труд *съдържа научни, научно-приложни и приложни резултати, които представляват оригинален принос в науката* и отговарят на всички изисквания(та) на Закона за развитие на академичния състав в Република България (ЗРАСРБ), Правилника за прилагане на ЗРАСРБ и съответния Правилник на МУ - Пловдив. Представените материали и дисертационни резултати **напълно** съответстват на специфичните изисквания на МУ – Пловдив.

Дисертационният труд показва, че докторантът(ката) **Мартина Божкова притежава** задълбочени теоретични знания и професионални умения по научна специалност Имунология, направление 7.1, като **демонстрира** качества и умения за самостоятелно провеждане на научно изследване.

Поради гореизложеното, **убедено** давам своята *положителна оценка* за проведеното изследване, представено от рецензираните по-горе дисертационен труд, автореферат, постигнати резултати и приноси, и **убедено предлагам на научното жури да присъди образователната и научна степен 'доктор'** на д-р Д-р **Мартина Радославова Божкова** в докторска програма по Имунология, направление 7.1 Медицина.

20.01.2026 г.

Рецензент:

Заличено на основание
Чл.5 §1, 6."В" Регламент (ЕС)2016/679

Доц. Петя Димитрова