

СТАНОВИЩЕ

от проф. д-р Илия Николов Илиев,
катедра „Биохимия и микробиология“ при ПУ „Паисий Хилендарски“ –
Пловдив

Относно: дисертационен труд на тема „Проучване на В-клетъчната имунна памет при COVID-19 и поствакцинален имунитет“ представен за официална защита от ас. д-р Мартина Радославова Божкова от катедра Катедра по медицинска микробиология и имунология „Проф. д-р Елисей Янев“ към Медицински университет - Пловдив за придобиване на образователна и научна степен „ДОКТОР“ по професионално направление 7.1. Медицина; Докторска програма „Имунология“.

Получени материали: Дисертация, проект за автореферат, списък с публикации.

Със заповед № P-7134/16.12.2025г. на Заместник-Ректора на Медицински университет - Пловдив съм определен за член на научно жури по защита на дисертационен труд за придобиване на образователна и научна степен „Доктор“ от докторант Мартина Радославова Божкова от катедра Катедра по медицинска микробиология и имунология „Проф. д-р Елисей Янев“ към Медицински университет - Пловдив за придобиване на образователна и научна степен „ДОКТОР“ по професионално направление 7.1. Медицина; Докторска програма „Имунология“. Предложеният дисертационен труд е оформен по стандартен за България модел, написан е на 160 стандартни машинописни страници и съдържа следните основни глави: Съдържание – 2 стр., Списък на фигурите – 1 стр., Списък на таблиците – 1 стр., Използвани съкращения – 2 стр., Увод – 2 стр., Състояние на проблема – 28 стр., Цел и задачи – 1 стр., Материали и методи – 16 стр., Резултати – 37 стр., Обсъждане – 19 стр., Заключение – 2 стр., Изводи – 1 стр., Приноси – 1 стр., Литература – 40 стр., Списък с публикации по дисертацията – 1 стр. В дисертацията са представени за онагледяване 29 фигури и 7 таблици. Докторант Мартина Божкова е използвала твърде голям брой литературни източници – 361 всички на латиница. Широкият обхват на темата, която е с огромно социално значение предполага обследването на голям брой литературни източници и обяснява цитираната литература.

Предлаганият дисертационен труд съчетава в себе си чисто теоритично изследване и дискусия върху опровергаването през последните две десетилетия на двете основни парадигми на определението за имунна памет, а именно за нейното ограничаване до адаптивния имунитет и до гръбначните животини, заедно с развитието на разбирането за протективния имунитет като резултат от

наличието на неутрализиращи антитела, активни ефекторни клетки или други фактори на имунната система, които осигуряват незабавна защита. От друга страна по безпрецедентен начин се разви приложният аспект на тази теоритична постановка в условията на преживяната пандемия от COVID-19, която доведе до бързото въвеждане в клинично приложение на различни ваксини, на фона на сравнително широко достъпни имунологични аналитични техники и позволи да се ускори изследването на протективния имунитет и имунната памет през последните години в посока установяване на връзка между посттранслационните модификации на белтъчни молекули с редица заболявания. Ето защо напълно обосновано авторката изгражда своята хипотеза от една страна върху разбирането на имунния отговор и продължителността на имунната памет при предходните коронавирусни епидемии като решаващ момент при разработването на ефективни терапевтични стратегии и ваксинопрофилактика срещу SARS-CoV-2. От друга страна тя се опира на тезата, че разбирането на субпопулациите на В-лимфоцитите – включително наивни, преходни, плазматични, IgM⁺ и switched memory клетки, както и CD21^{low} и маргинално-зонови В-лимфоцити позволява по-прецизна диагностика на първични имунодефицити, оценка на ваксинален отговор, мониториране на терапевтичния ефект и идентифициране на вторични имунни дисфункции.

Информацията в литературния обзор е много подробна както по посока характеристика на В-лимфоцитните субпопулации, така и върху имунният отговор срещу вирусни инфекции на базата на тясно координирано взаимодействие между вродения и адаптивния имунитет. Авторката подробно се спира и върху използваните методи на изследване и тяхната практическа стойност.

В резултат на направения литературен обзор, авторката на дисертацията формулира целта на изследването, а именно да се оцени динамиката и продължителността на хуморалния и паметовия В-клетъчен имуен отговор след преболедуване и ваксинация с иРНК ваксини срещу SARS-CoV-2, която се постига при решаването на пет задачи.

В раздел „Материали и методи“ са описани основните методи, които са прилагани при изпълнението на поставените задачи в настоящото изследване. По време на разработването на настоящия научен труд ас. Божкова е усвоила голям брой както класически биохимични, така и съвременни имунологични и имуно-ензимни методи, което е основание да се счита че е придобил необходимия методичен опит при извеждане на научен експеримент.

Резултатите от направените изследвания са представени в раздел „Резултати“. В първият етап от своето изследване докторантката стартира с описание на демографската характеристика на участниците в проучването, които уместно е разделила на четирите изследвани групи – ваксинирани с BNT162b2 (n=157), с mRNA-1273 (n=18), преболедували COVID-19 (n=110) и здрави контроли (НС, n=18). Във втората глава са представени резултатите от изследването на динамиката на хуморалния имуен отговор, която е проследена чрез количествено определяне на IgG антитела, насочени срещу рецептор-свързващия домейн (RBD) на Spike протеина на SARS-CoV-2. Д-р Божкова установява, че имунизацията с двете иРНК ваксини води до мощен хуморален отговор с висок пик в T1, последван от понижаване на нивата в T2 и T3. При ваксината mRNA-1273 се наблюдава по-висока медиана и по-устойчиви стойности в късните времеви точки, докато при ваксината BNT162b2 има посилен спад и по-голям дял участници с изчезващ отговор на 12 месец. Преболедувалите лица показват най-широка индивидуална вариабилност, отразяваща природата на естествения имунитет.

При решаване на втората задача от дисертацията д-р Божкова е направила оценка на клетъчния имунитет, в частност на антитяло-синтезиращите В-лимфоцити, която счита за съществена за разбиране на дългосрочната протекция след ваксинация или прекарана инфекция със SARS-CoV-2. Представени са голямо количество данни от проведеното изследване, което изисква много внимателното им обследване за да се установят съответните корелационни зависимости в контекста на ранната диагностика. Чрез ELISpot методика е проследен броят на спот-образуващите единици (SFU), разпознаващи рецептор-свързващия домен (RBD) на вируса. Докторантката коментира получените от нея резултати като заключава, че имунизацията с иРНК ваксини води до силен пик на В-клетъчна памет, с по-голяма амплитуда при mRNA-1273 ваксината. Независимо дали са ваксинирани с използването на двете ваксини или са преболедували се наблюдава индивидуална хетерогенност, която трябва да се отчита при оценка на нуждата от бустерни дози и продължителност на имунната защита. При изпълнение на третата задача д-р Божкова прави оценка на Т-клетъчният отговор чрез T-SPOT анализ, измерващ броя спот-образуващите единици (SFU) в отговор на стимул с пептиди в два различни панела – Панел А (S пептид) и Панел В (N пептид). При експериментите за решаване на четвъртата задача докторантката прави оценка на относителното разпределение на В-клетъчни субпопулации като процент от живите лимфоцити във всяка изследвана група и времева точка, както и допълнителен анализ на антиген-

специфични (S1) и превключилите на класа паметови клетки чрез използване на многопараметърна флоуцитометрия. При изпълнение на петата задача д-р Божкова е получила резултати, подкрепящи тезата, че дълготрайният паметов отговор към SARS-CoV-2 се осъществява предимно чрез клас-превключили клетки, докато паметовите В-лимфоцити без класово превключване (NCSMB) играят по-ограничена роля и присъстват като малка фракция в общия пул от S1-специфични В-лимфоцити.

Прави впечатление много задълбоченото и пространно обсъждане на резултатите с тези от други автори в търсене на пресечната точка на достоверност. Трудността в такива случаи идва от използването на голям брой показатели като маркери при търсене на корелационни зависимости при заболявания, разпространени епидемиологично. Авторката формулира шест основни извода, които по принцип описват постигнатите резултати от експериментите. Приемам формулираните от докторантката приноси по принцип, като бих предложил по-ясно разграничаване на някои от тях от изводите. Например в принос 4 не е формулирано ясно научното постижение, а в принос пет може да се наблегне на реалния принос за практиката.

Предлаганият дисертационен труд е написан на ясен и информативен научен език и отговаря напълно на целите, задачите и постигнатите резултати в него.

Представени са данни за публикуване на резултатите в 3 научни публикации, от които две с IF, с което напълно покрива минималните изисквания за получаване на научното звание „Доктор“. Една от статиите е публикувана в списание с Q2 - Bozhkova M., Raycheva R., Petrov S., Dudova D., Kalfova T., Murdjeva M., Taskov H., Shivarov V. Humoral and Memory B Cell Responses Following SARS-CoV-2 Infection and mRNA Vaccination. *Vaccines* 2025, 13(8), 799; <https://doi.org/10.3390/vaccines13080799> Q2. Друга статия е с Q3 - Bozhkova M., Gardzheva P., Rangelova V., Taskov H., Murdjeva M. Cutting-edge assessment techniques for B cell immune memory: an overview. *Biotechnology & Biotechnological Equipment*. 2024;38(1):2345119, <https://doi.org/10.1080/13102818.2024.2345119>.

Докторантката е представила и проект за автореферат, отговарящ на всички изисквания.

Заклучение:

Оценката ми за представения дисертационен труд на ас. д-р **Мартина Радославова Божкова** за придобиване на образователна и научна степен „ДОКТОР“ по професионално направление 7.1. Медицина, докторска програма по имунология е напълно положителна. Бих искал да отбележа още веднаж достойнствата – на първо място една научно обоснована и прецизно изпълнена научна разработка, с оригинални изследователски подходи, съдържаща правилно интерпретирани и обобщени резултати. Експерименталната работа надхвърля изискуемия стандарт за този тип дисертации. Дисертационния труд има подчертани научни и научно-приложни приноси, които биха могли да намерят приложение клиничната диагностика на вирусни инфекции и при оценка ефективността при прилагане на ваксини.

Представената дисертация напълно отговаря на изискванията на ЗРАСРБ и Правилника за неговото прилагане. Постигнатите резултати ми дават основание да предложа да бъде присъдена образователна и научна степен „доктор“ на ас. Д-р **МАРТИНА РАДОСЛАВОВА БОЖКОВА** по професионално направление 7.1. Медицина, докторска програма по Имунология.

23.02.2026г.

Пловдив

Изготвил:

(проф. д-р **Илия Илиев**)

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