

РЕЦЕНЗИЯ

от проф. д-р Анелия Веселинова Биволарска, дб

ръководител на катедра по Медицинска биохимия

към Фармацевтичен факултет на Медицински университет - Пловдив

*Относно: Дисертационен труд за придобиване на научна степен „Доктор на науките”,
Област на висшето образование 7. Здравеопазване и спорт, Професионално направление:
7.1. Медицина. Докторска програма: „Медицинска биология”*

Автор: проф. Мария Христова Казакова, дб

Катедра „Медицинска биология“, Медицински факултет, Медицински университет -
Пловдив

Тема: “Молекулно-биологични и имунологични проучвания върху хитиназноподобните протеини CH3L1 и CH3L2 в процеси на възпаление, туморогенеза и невродегенерация”

Със заповед №Р-1306/25.02.2026 на Ректора на Медицински университет - Пловдив и решение на първо заседание на Научното жури от 05.03.2026 г. съм определена да изготвя рецензия за защита на дисертационен труд на тема: “Молекулно-биологични и имунологични проучвания върху хитиназноподобните протеини CH3L1 и CH3L2 в процеси на възпаление, туморогенеза и невродегенерация ” на проф. Мария Казакова, към същата катедра.

БИОГРАФИЧНИ ДАННИ И ПРОФЕСИОНАЛНА КВАЛИФИКАЦИЯ

Мария Казакова завършва през 2005 г. ПУ „П. Хилендарски“ като бакалавър по молекулярна биология, а през 2006 г. придобива и магистърска степен по клетъчна биология. От 2005 до 2007 г. работи като биолог в катедра „Биология на развитието“ на същия университет. След успешно положен конкурсен изпит през 2007 г., е назначена за асистент в катедра „Медицинска биология“ на МУ – Пловдив. Паралелно с преподавателската работа, разработва и докторантура по имунология, която защитава успешно през 2013 г. В същата година придобива и специалност по медицинска биология, а от следващата е назначена за главен асистент. През 2015 г. М. Казакова се дипломира и като магистър - мениджър на приложните изследвания в ПУ „П. Хилендарски“. От 2016 г. е редовен доцент по медицинска биология, а от 2024 г. и ръководител на едноименната катедра.

АНАЛИЗ НА ДИСЕРТАЦИОННИЯ ТРУД

1. АКТУАЛНОСТ НА НАУЧНИЯ ТРУД

Представеният дисертационен труд засяга изключително актуална и значима научна проблематика, свързана с ролята на митохондриалната дисфункция, оксидативния стрес и възпалителните процеси в патогенезата на широк спектър от социално значими заболявания, включително автоимунни, невродегенеративни и туморни състояния. Съвременните научни данни убедително показват, че тези процеси са ключови

патогенетични механизми, които определят развитието, прогресията и усложненията на редица хронични заболявания.

Особено значение има изследването на индивидуалните вариации в клетъчните и молекулярните механизми, включително промените в митохондриалния статус и въздействието на оксидативния стрес, които могат да допринесат за по-прецизна диагностика и ефективен мониторинг на терапията. В този контекст разработването и валидирането на нови биомаркери за тъканно ремоделиране и оксидативен стрес представлява приоритетна научна задача. Въпреки това, подобни изследвания изискват значителен ресурс, както по отношение на големи и добре характеризирани кохорти от пациенти и здрави контроли, така и по отношение на високоспециализирана апаратура и аналитични методи.

Особено внимание в труда е отделено на хитиназноподобните протеини (CLPs), които представляват нов и перспективен клас биомаркери. Най-добре проученият представител CN3L1 (YKL-40) е утвърден като системен маркер на възпаление и фиброза, с повишени нива при различни патологични състояния, включително сърдечно-съдови заболявания, диабет и астма. Наред с това, все по-голям научен интерес предизвиква и CN3L2 (YKL-39), който се свързва с активността на хондроцити и макрофаги и предоставя по-специфична информация за локални патологични процеси.

Хитиназноподобните протеини участват активно в регулацията на имунния отговор, възпалението, тъканното ремоделиране и фиброзата, както и в процесите на туморогенеза. Въпреки структурната им сходност, отделните представители на това семейство

демонстрират различен експресионен профил и функционална специфичност, което допълнително подчертава тяхната диагностична и прогностична стойност.

В обобщение, изследването на CLPs като биомаркери на възпаление, тъканна увреда и онкологична прогноза е напълно съвременно и с висок научно-приложен потенциал. Дисертационният труд се вписва в актуалните тенденции на персонализираната медицина и има потенциал да допринесе за усъвършенстване на диагностичните и терапевтичните подходи при редица хронични заболявания.

2. ОПИСАНИЕ НА ДИСЕРТАЦИЯТА

Дисертационният труд е представен в обем от 184 страници, илюстриран с 41 фигури и 31 таблици. В края на труда са систематизирани 4 приложения. Библиографията включва общо 231 литературни източника, от които две са на кирилица. Прави впечатление високата актуалност на използваната литература - 52 източника (26.5%) са публикувани през последните 5 години (2021–2026), а 118 (60.2%) - през последните 10 години (2016–2026).

Дисертационният труд е структуриран по ясен и логичен начин и се характеризира с добре балансирани части. Той включва следните основни раздели: въведение, литературен обзор, цел и задачи, материали и методи, резултати, обсъждане, заключение, изводи, научни приноси, научни трудове, свързани с дисертационния труд и книгопис.

Въведението е кратко и въвежда читателя в същността на разглеждания научен проблем. Литературният обзор заема приблизително 15% от общия обем на труда и представя систематизирано съвременното състояние на изследваната проблематика.

Разделът „Материали и методи“ обхваща около 13% и е изчерпателно разработен, като осигурява необходимата методологична основа за проведените изследвания.

Най-голям относителен дял заема разделът „Резултати“ - около 39%, което е логично предвид експерименталния характер на труда. Обсъждането представлява приблизително 10% от обема и демонстрира способност за интерпретация и критичен анализ на получените резултати. Останалата част от дисертацията включва заключение, изводи и научни приноси, както и представяне на научните публикации по темата и използваната литература.

Цялостно дисертационният труд е добре структуриран, с ясно разграничени и пропорционално разпределени раздели, което улеснява възприемането на представения научен материал.

3. ЛИТЕРАТУРЕН ОБЗОР

Литературният обзор на дисертационния труд е структуриран последователно и логично, като обхваща основните аспекти, свързани с биологията и клиничното значение на хитиназите и хитиназноподобните протеини. Авторът започва с ясно разграничаване между истинските хитинази (AMCase, CHIT1) и хитиназноподобните протеини, което създава необходимата теоретична основа за последващия анализ. Подробно са разгледани отделните представители на хитиназноподобните протеини, включително CHI3L1 (YKL-40) и CHI3L2 (YKL-39), както и по-рядко дискутирани членове като Ym1/Ym2, oviductin и SI-CLP. Представени са техните генетични характеристики, експресия и основни функции, което допринася за цялостното разбиране на тази консервативна протеинова фамилия.

Силна страна на литературния обзор е систематичното проследяване на ролята на CH3L1 и CH3L2 както при здрави индивиди, така и при различни патологични състояния. Анализирани са данни за участието им при автоимунни заболявания и възпалителни процеси, невродегенеративни заболявания, включително разстройства от аутистичния спектър и инфекции на централната нервна система, както и при злокачествени заболявания, с акцент върху колоректалния карцином и глиобластомите.

Особено положително впечатление прави, че авторът не се ограничава до описателен подход, а извежда критичен анализ на наличните данни. Ясно са подчертани различията в експресионния профил и биологичното поведение на CH3L1 и CH3L2. Докато CH3L1 е представен като утвърден системен маркер за възпаление, фиброза и туморогенеза, CH3L2 се характеризира с по-ограничена и специфична експресия, като неговата диагностична и прогностична стойност остава недостатъчно изяснена. В литературния обзор са формулирани важни научни проблеми, включително липсата на консенсус относно клиничното приложение на CH3L2, отсъствието на общоприети референтни стойности за двете молекули при здрави индивиди и противоречивите данни относно тяхната съвместна експресия при различни заболявания. Обърнато е внимание и на наблюдаваните различия в динамиката на двата протеина - паралелна експресия при някои туморни процеси (напр. колоректален карцином) и противоположни тенденции при автоимунни и невродегенеративни заболявания.

Съществен акцент е поставен върху липсата на данни за връзката между хитиназноподобните протеини и митохондриалната функция, което представлява важна научна празнина. Този аспект е логично свързан с ролята на клетъчния метаболизъм и

оксидативния стрес в патогенезата на разглежданите заболявания и аргументира необходимостта от провеждането на настоящото изследване.

В заключение, литературният обзор е добре структуриран, тематично последователен и критично ориентиран. Той не само обобщава съществуващите знания, но и ясно очертава нерешените въпроси и научната значимост на поставените цели и задачи, като по този начин създава стабилна основа за дисертационния труд.

4. МАТЕРИАЛИ И МЕТОДИ

Разделът „Материали и методи“ е разработен задълбочено, логично структурирано и на високо научно ниво, като напълно съответства на поставените цели и задачи на дисертационния труд. Представен е добре обмислен дизайн на изследването, който съчетава широк обхват на изследваните патологични състояния с приложението на съвременни и надеждни методични подходи.

Изследваният контингент включва значителен брой участници ($n=270$), разпределени в три основни групи - автоимунни и възпалителни заболявания, невродегенеративни състояния и злокачествени заболявания. Включването на разнообразни нозологични единици (ревматоиден артрит, системна склероза, остеоартрит, инфекции на ЦНС, исхемичен инсулт, разстройства от аутистичния спектър, колоректален карцином и глиобластом), както и на подходящи контролни групи, осигурява възможност за комплексен и сравнителен анализ на изследваните биомаркери. Критериите за включване и изключване са ясно дефинирани и съобразени със съвременните диагностични стандарти,

което гарантира хомогенност и надеждност на извадката. Използването на материал от различни клинични звена допълнително повишава представителността и значимостта на проучването.

Методичният подход е комплексен и мултидисциплинарен, обединяващ клинични, образни, лабораторни и молекулярно-биологични методи. Клиничната оценка е извършена чрез утвърдени диагностични критерии и скали, съобразени със спецификата на отделните заболявания, а приложените образни методи (вкл. ехография с Power Doppler и високоспециализирани неврообразни техники) позволяват прецизна оценка на патологичните промени.

Лабораторните изследвания са проведени с използване на съвременни и валидирани методи, включително ELISA за количествен анализ на протеинови нива и qRT-PCR за оценка на гена експресия. Подробното описание на процедурите по обработка и съхранение на биологичните материали осигурява възпроизводимост на резултатите. Допълнителна стойност придава включването на имунохистохимични анализи и тъканна експресия, които разширяват възможностите за интерпретация. Особено съществен принос представлява изследването на митохондриалната функция чрез съвременната Seahorse технология, което позволява в реално време оценка на клетъчния метаболизъм и обогатява изследването с иновативен функционален подход.

Статистическите методи са правилно подбрани и адекватно приложени, като са съобразени с характера и разпределението на данните, което гарантира коректност на анализа и достоверност на получените резултати.

Като цяло, разделът „Материали и методи“ се отличава с висока степен на прецизност, научна обосновааност и методологична завършеност, като осигурява надеждна основа за последващия анализ и интерпретация на резултатите.

5. РЕЗУЛТАТИ и ДИСКУСИЯ

Разделът „Резултати“ е разработен подробно и напълно съответства на поставените цели и задачи на дисертационния труд. Представените данни обхващат широк спектър от патологични състояния и позволяват цялостна оценка на ролята на CHI3L1 и CHI3L2 като биомаркери при автоимунни, възпалителни, невродегенеративни и туморни процеси.

Резултатите убедително демонстрират, че както генната, така и протеиновата експресия на CHI3L1 и CHI3L2 са повишени при пациенти с ревматоиден артрит и се повлияват от провежданата терапия, което подчертава тяхната чувствителност към динамиката на възпалителния процес. При системна склероза е установена значима връзка между нивата на CHI3L1, клиничните скали и провъзпалителните цитокини, което аргументира приложението му като маркер за стратификация на пациентите.

Особено ценен принос представляват данните при инфекции на централната нервна система, където експресията на CHI3L1 показва потенциал за диференциране между вирусни и бактериални етиологии. В онкологичните заболявания (колоректален карцином и глиобластом) е установена различна експресионна динамика на CHI3L1 и CHI3L2, свързана с туморната агресивност, като тъканната експресия на CHI3L1, в комбинация с туморното пълкуване, се очертава като надежден индикатор за метастатичен потенциал.

Резултатите при пациенти с разстройства от аутистичния спектър разкриват връзка между CH3L1 и митохондриалната дисфункция, корелираща с клиничните показатели, което представлява иновативен аспект в изследването. Допълнително, представените данни за взаимодействието между CH3L1, CH3L2 и митохондриалната функция разширяват съвременните представи за тяхната роля в патогенезата на различни заболявания.

Като цяло, резултатите са ясно представени, научно обосновани и добре интерпретирани. Те имат както потвърждаващ, така и оригинален характер и допринасят съществено за изясняване на диагностичната и прогностична стойност на изследваните маркери. Разделът демонстрира висока степен на аналитичност и значим научен принос.

Разделът „Дискусия“ е разработен задълбочено, аналитично и с високо ниво на научна интерпретация. Получените резултати са критично обсъдени в контекста на съвременната литература, като ясно се откроява връзката между възпалителните процеси, митохондриалната дисфункция и експресията на CH3L1 и CH3L2 при различните патологични състояния. Авторът демонстрира отлична способност за интегриране на данни от различни нива - молекулярно, клетъчно и клинично, което придава висока научна стойност на анализа. Направените интерпретации са аргументирани и логически последователни, като се обсъждат както потвърждаващи, така и противоречиви данни от литературата.

Особено силна страна на дискусията е мултидисциплинарният подход и опитът за обяснение на наблюдаваните явления чрез съчетаване на имунологични, метаболитни и онкологични механизми. В същото време се откроява критичното осмисляне на

ограниченията и необходимостта от допълнителни изследвания, което допълнително повишава научната стойност на разработката.

ПРИНОСИ И ЗНАЧИМОСТ НА РАЗРАБОТКАТА ЗА НАУКАТА И ПРАКТИКАТА

Оригиналните приноси на дисертационния труд са значими и съществено обогатяват научните познания в областта на молекулярната медицина, с особен акцент върху ролята на СНЗL1 и СНЗL2 в процесите на възпаление, тъканно ремоделиране, невродегенерация и туморогенеза. Разработката има ясно изразена научна и потенциална клинична стойност.

Първо, представянето на нови данни за генната, протеиновата и тъканната експресия на СНЗL1 и СНЗL2 при широк спектър от заболявания, асоциирани с хронично възпаление, невродегенерация и туморна трансформация, представлява съществен принос към съвременната биомаркерна наука. Получените резултати разширяват разбирането за диференциалната роля на двата хитиназоподобни протеина в различен патологичен контекст.

Второ, установяването на митохондриална дисфункция като ключов компонент при процеси, свързани с невровъзпаление и хронично възпаление, има важно научно и практическо значение. Този принос създава предпоставки за по-ранно идентифициране на метаболитни нарушения и за по-ефективен мониторинг и индивидуализиране на терапевтичните стратегии при заболявания като РА и РАС.

Трето, доказването на ролята на СН3L1 в стимулирането на туморната пролиферация, инвазия и метастатичен потенциал, чрез модулация на възпалението и туморната микросреда, представлява важен принос в онкологичната наука. Тези данни подчертават потенциала на СН3L1 като прогностичен и възможен терапевтичен биомаркер при злокачествени заболявания.

Обобщено, представените приноси демонстрират висока научна стойност, оригиналност и приложимост на дисертационния труд.

Авторефератът съответства по съдържание и структура на дисертационния труд и отразява коректно постигнатите резултати и изводи.

ПУБЛИКАЦИОННА АКТИВНОСТ, СВЪРЗАНА С ДИСЕРТАЦИОННИЯ ТРУД

Научната продукция, свързана с дисертационния труд на проф. Мария Казакова, включва общо 17 научни публикации. От тях 13 публикации са индексирани и реферирани в световноизвестни бази данни Scopus и WoS и са публикувани в списания с импакт фактор, при минимални изисквания от 10 публикации; 2 публикации са приети/със статус „submitted“ в реферирани международни списания. Проф. Казакова е първи автор в 6 научни труда, което подчертава водещата ѝ роля в разработването и реализирането на значителна част от научните изследвания. По показател Г (публикации) са необходими минимум 100 точки, като са отчетени 133 точки, което представлява съществено преизпълнение на минималните изисквания. По показател Д (цитирания) са отчетени 166 цитирания, които при нормативна тежест от 15 точки формират общо 2490 точки, при

минимално изисквани 150 точки, което многократно надхвърля изискванията и отразява високата международна видимост на научните резултати. Общият сбор от точки по всички показатели е 2773 точки при минимално изискуеми 450 точки, което показва многократно превишаване на нормативните изисквания.

Допълнително се отчита значителна научна активност, изразена в участие в 30 научни форума (15 национални и 15 международни), както и участие в 12 научноизследователски проекта.

В заключение, научната продукция, водещото авторство и високата цитируемост категорично надхвърлят националните изисквания за присъждане на научната степен „доктор на науките“ и доказват устойчив, оригинален и международно признат научен принос.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Представеният дисертационен труд на проф. Мария Казакова на тема: *„Молекулно-биологични и имунологични проучвания върху хитиназноподобните протеини CH13L1 и CH13L2 в процеси на възпаление, туморогенеза и невродегенерация“* е актуален, оригинален, с логична научна структура и ясно формулирани цели и задачи, които са прецизно изпълнени. Получените резултати са надеждни, възпроизводими и базирани на съвременни молекулярно-биологични, имунологични и функционални методи на изследване.

В рамките на дисертационния труд са получени нови данни, които разширяват познанията относно биологичната роля на CH3L1 и CH3L2 като ключови медиатори, свързващи възпалителните процеси, тъканното ремоделиране, туморогенезата и невродегенерацията. Изследванията имат интердисциплинарен характер и демонстрират високо ниво на научна интерпретация. Получените резултати водят до оригинални научно-теоретични приноси с потенциал за бъдещо приложение в диагностиката, прогнозирането и мониторинга на заболявания, асоциирани с хронично възпаление и митохондриална дисфункция. Публикационната активност на кандидата, включваща публикации в престижни международни списания с импакт фактор, индексирани в световноизвестни бази данни, както и участия в национални и международни научни форуми, подчертава значимостта на проведените изследвания и високото им признание в научната общност.

Достойнствата на дисертационния труд и изпълнените изисквания за необходимите количествени и качествени критерии съгласно Закона за развитие на академичния състав в Република България и Правилника на съответната научна организация ми дават основание да дам своята **положителна оценка** и да предложа на почитаемото научно жури да присъди образователната и научна степен „Доктор на науките“ на проф. Мария Казакова в област на висшето образование 7. Здравеопазване и спорт, професионално направление 7.1. Медицина, докторска програма „Медицинска биология“.

16.04.2026 г

Изготвил рецензията:

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

Пловдив

Проф. д-р Анелия Биволарска, дб