

РЕЦЕНЗИЯ

От Проф. д-р Снежина Михайлова Кандиларова

Клиника по клинична имунология с банка за стволови клетки, УМБАЛ
„Александровска“ЕАД, Катедра Клинична имунология, Медицински Факултет,
Медицински Университет, София

Външен член за МУ Пловдив, на състава на Научно жури по процедурата за защита на дисертационен труд за придобиване на научна степен „доктор на науките“ съгласно заповед №

Р- 1306/25.02.2026

ОТНОСНО: Дисертационен труд по научна специалност „Медицинска биология“ на **Проф. Мария Христова Казакова-Велинова, дб**, от катедра „Медицинска биология“, МФ, МУ-Пловдив, 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“

Тема „Молекулно-биологични и имунологични проучвания върху хитиназноподобните протеини СН3L1 и СН3L2 в процеси на възпаляване, туморогенеза и невродегенерация“.

В качеството си на член на научното жури, по процедурата ми бяха предоставени в срок документи на **Проф. Мария Христова Казакова-Велинова, дб**

Процедурата е съобразена със ЗРАСРБ, ПП ЗРАСРБ, Правилник за академично развитие в МУ-Пловдив (2021)

Декларирам, че нямам конфликт на интереси с автора на дисертационния труд.

Биографични данни и професионална квалификация

Мария Казакова е професор и ръководител на катедра „Медицинска биология“ в Медицински университет – Пловдив. Завършва бакалавър по молекулярна биология (2005) и магистър по клетъчна биология (2006) в Пловдивски университет „Паисий Хилендарски“. През 2013 г. защитава докторантура по имунология и придобива специалност по

медицинска биология, а през 2015 г. завършва и магистратура по мениджмънт на приложни изследвания.

Професионалният ѝ път включва позиции от биолог и асистент до доцент и професор, с активно участие в академични и научно-изследователски съвети на университета. Води лекции и практически занятия по паразитология, молекулярна биология и имунология на студенти от медицина, дентална медицина и фармация на български и английски език, автор и съавтор е на учебни помагала и ръководства.

Има богат опит в ръководството на научни проекти – над 29 национални и международни, и специализации в България, Италия и Русия, включително обучение по лидерство, Harvard University (2023–2024). Член е на Съюза на учените в България и European Immunology Society, активно участва в академични журита, държавни изпити и подготовката на докторанти и специализанти. Владее английски и италиански, с доказани комуникационни и управленски умения.

Характеристика и оценка на дисертационния труд и приносите

1. Актуалност и познаване на разработваната тема

Дисертационният труд е структуриран в следните раздели: въведение, литературен обзор, цели и задачи, материали и методи, резултати, обсъждане, изводи и приноси. Библиографията съдържа 210 заглавия (3 се дублират), като около 30% са от последните 5 години. В края на дисертационния труд са систематизирани 4 приложения.

Представената дисертационна разработка е посветена на изключително актуална и мултидисциплинарна научна проблематика, насочена към молекулно-биологичните и имунологичните аспекти на хитиназноподобните протеини CH3L1 и CH3L2 в контекста на възпалението, туморогенезата и невродегенеративните процеси. Темата е съвременна и значима, тъй като обединява ключови направления в биомедицинските изследвания – имунология, молекулна биология, невронауки и онкология, с пряко отношение към диагностиката, прогнозата и терапевтичния мониторинг на социално значими заболявания. Литературният обзор демонстрира много добро познаване на състоянието на научния проблем. Анализирани са задълбочено широк кръг от съвременни литературни източници, обхващащи както фундаментални аспекти (структура, генна организация, биологични функции), така и клинични приложения на разглежданите молекули. Последователно и

логично са представени ролята на хитиназите и хитиназноподобните протеини като част от GN18 семейството, както и тяхното участие в ключови патофизиологични процеси като възпаление, тъканно ремоделиране, ангиогенеза и имунна регулация. Подробно е описана ролята на CH13L1 и CH13L2 в няколко различни по своята етиология заболявания като ревматоиден артрит, системна склероза, остеоартрит. Систематизирано са представени данни за нивата на двата хитиназноподобни протеина при исхемичен инсулт, разстройство от аутистичния спектър и инфекции на централната нервна система. Обособена е отделна глава за значението на протеините в туморегенезата и по-конкретно при колоректален карцином и глиобластоми.

Ясно са формулирани нерешените научни въпроси, сред които липсата на консенсус относно ролята на CH13L2, недостатъчните данни за съвместната експресия на двата протеина, както и отсъствието на утвърдени референтни стойности и връзка с митохондриалната функция. Тези дефицити в знанието убедително обосновават поставените цели и задачи на дисертационния труд.

В заключение, може да се оцени, че темата на дисертационния труд е високо актуална, научно значима и с потенциал за принос както в теоретичен, така и в приложен аспект.

Цел на дисертационния труд е да се изследва комплексната експресия и биологична роля на хитиназноподобните протеини (CH13L1 и CH13L2) в процеси на възпаление, туморогенеза и невродегенерация. Задачите са две едната от тях е с три подзадачи.

2. Методология на изследването

Разделът „Методи и материали“ е написан на 24 страници. Представените материали и методи демонстрират добре планиран, мултидисциплинарен и съвременен изследователски подход, съответстващ на поставената цел – комплексно изследване на CH13L1 и CH13L2 в различни патологични процеси със силно изразен транслационен дизайн. Контингентът от 270 пациенти е сравнително голям и разнообразен, обхващащ автоимунни, невродегенеративни и онкологични заболявания, което е силна страна, тъй като позволява широка интерпретация и сравнимост между различни патогенетични модели. Наличието на контролни групи към всяка нозология допълнително повишава валидността на резултатите,

въпреки че при някои подгрупи (напр. иЦНС, РА, SS) броят на контролите е относително ограничен.

Критериите за включване и изключване са ясно дефинирани и съобразени със съвременните диагностични стандарти (ACR/EULAR, DSM-5, NIHSS). Използваните клинични и образни методи (ехография, MRI, СТ, стандартизирани скали) са адекватни и напълно приложими за съответните заболявания.

Лабораторните методи са модерни и широко утвърдени. Особено силен аспект е изследването на митохондриалната функция чрез Seahorse технология. Този тип анализи има добавена стойност към разработката, което значително повишава оригиналността и.

1. Резултати и тяхната интерпретация

Частта „Резултати“ е най-обширна, написана е на 72 страници. Текстът е структуриран ясно, като преминава от демографска и клинична характеристика на пациентите към задълбочен анализ на биохимични, молекулярни и митохондриални показатели, което позволява проследяване на връзките между отделните нива на организация – от генна експресия до функционален отговор.

Резултатите са представени систематично чрез комбиниране на описателна статистика, сравнителни анализи и корелационни изследвания, като използваните методи са адекватни на разпределението на данните. Коректно е отчетено ненормалното разпределение на значителна част от променливите и съответно са използвани непараметрични тестове, което показва добра статистическа култура. Включването на клъстерен анализ при пациентите с инфекции на ЦНС значително обогатява интерпретацията и позволява идентифициране на различни клинично-биологични подтипове, което е съществен принос. Аналогично, при РАС използването на ROC анализ и логистична регресия за стратификация на пациентите добавя предиктивна стойност на резултатите и показва стремеж към клинична приложимост.

Онагледяването на резултатите е на много добро ниво. В текста са включени 41 фигури и над 31 таблици, които представят както суровите данни, така и обобщените тенденции. Използвани са разнообразни визуализации – кутийни графики, бар-графики, корелационни зависимости, клъстерни профили, както и схематични изображения на биологични процеси.

Това разнообразие улеснява възприемането на информацията и позволява ясно проследяване на основните зависимости. Таблиците са информативни и съдържат ключови статистически показатели като медиана, интерквартилен диапазон, средна стойност и стандартно отклонение, което позволява пълна оценка на разпределението на данните. Особено силно впечатление прави интегрирането на различни типове данни – клинични, лабораторни, генни и функционални – в единна аналитична рамка.

. За първи път се представят данни за CH3L2 в контекста на исхемичен инсулт и се прави опит за функционална интерпретация на тези резултати, което има потенциална научна новост. Силна страна е и сравнителният характер на анализа между различни заболявания, което позволява извеждане на по-общи патофизиологични закономерности.

Направените изводи са в съответствие с получените резултати и не надхвърлят тяхната доказателствена стойност. Общото впечатление е за добре проведено и задълбочено изследване с висока научна стойност, което допринася за разбирането на ролята на CLPs в различни патологични процеси.

Представената дискусия е в голяма степен последователна, логически структурирана и добре свързана с получените резултати, като успява да интегрира данните в по-широк контекст на съвременните познания за ролята на CH3L1 и CH3L2 в автоимунни, невродегенеративни и онкологични заболявания. Интерпретацията на резултатите е аргументирана и подкрепена с литературни източници, което създава усещане за научна обоснованост и надеждност. Ясно се проследява връзката между експерименталните находки и известните патофизиологични механизми, като особено силно впечатление прави интердисциплинарният подход и опитът да се обединят имунологични, молекулярни и митохондриални аспекти в единна концептуална рамка. Особено ценен е опитът да се интерпретират и неочаквани или противоречиви резултати, като например връзката между CH3L1 и митохондриалния резервен капацитет, което показва критично мислене и научна зрялост. Силна страна е и сравнителният анализ между различни

5. Приноси и научна значимост на дисертационния труд

Проучването се отличава с ясно изразен мултидисциплинарен характер и интегративен подход, обединяващ клинични, лабораторни, молекулярни и функционални данни при различни групи заболявания – инфекции на ЦНС, исхемичен инсулт, разстройства от

аутистичния спектър, глиобластом, колоректален карцином, както и системни аутоимунни заболявания като ревматоиден артрит и системна склероза.

Сред основните научни приноси се откроява комплексното изследване на CHI3L1 и CHI3L2 на няколко нива – протеиново (плазма и ликвор), генна експресия и локална тъканна експресия, което позволява цялостна оценка на тяхната биологична роля. Демонстрира се, че CHI3L1 функционира като чувствителен индикатор за възпаление, тъканно увреждане и туморна активност, докато CHI3L2 проявява по-специфични експресионни характеристики, свързани с туморната агресивност. В тази връзка се установява, че двата протеина показват различни модели на експресия при колоректален карцином и глиобластом, асоциирани със степента на злокачественост и прогресията на заболяването.

При аутоимунните заболявания са получени съществени данни за ролята на CHI3L1 като маркер на възпалителната активност. При пациентите с ревматоиден артрит се доказва значително повишена генна и протеинова експресия на CHI3L1 и CHI3L2 преди започване на терапия, с последващо намаляване в зависимост от приложеното лечение, което отразява редуциране на възпалителния процес. Аналогично, при системна склероза повишените плазмени нива на CHI3L1 и тяхната връзка с клинични показатели и провъзпалителни цитокини потвърждават ролята му като маркер за хронично аутоимунно възпаление и като инструмент за стратификация на пациентите.

Съществен принос представлява и анализът на туморната тъкан при колоректален карцином, където се установява статистически значима повишена експресия на CHI3L1 и CHI3L2, особено в инвазивния фронт и при туморното пълкуване. Комбинираната оценка на тъканната експресия на CHI3L1 и степента на туморно пълкуване се очертава като надежден показател за метастатичния потенциал на тумора и за процесите на туморна инвазия и клетъчна комуникация. Допълнително, при глиобластом се демонстрира динамична промяна в серумните нива на CHI3L1 в ранния постоперативен период, което подчертава връзката му с острия възпалителен отговор и тъканната реактивност.

В областта на невроинфекциите се установява, че експресията на CHI3L1 има диагностична стойност, като може да подпомогне ранното разграничаване между вирусни и бактериални инфекции на централната нервна система, което има важно клинично значение за своевременното терапевтично поведение.

Друг ключов принос е свързан с изследването на митохондриалната функция чрез Seahorse технология, като за първи път в българска кохорта се представя подробен биоенергетичен профил при различни заболявания. Установява се, че митохондриалната дисфункция има заболяване-специфичен характер – изразена при ревматоиден артрит, минимална при исхемичен инсулт и с особен профил при разстройства от аутистичния спектър. При последните се наблюдава повишен резервен дихателен капацитет и максимално дишане, което насочва към нарушена метаболитна адаптация и повишена чувствителност към оксидативен стрес. В този контекст се показва, че CH13L1 корелира с митохондриални показатели и клинични скали при пациенти с РАС, което позволява разглеждането му като потенциален маркер за митохондриална дисфункция.

Допълнително, проучването разкрива нови аспекти на връзката между CH13L1, CH13L2 и митохондриалната функция, особено при ревматоиден артрит, където CH13L1 корелира с резервния дихателен капацитет и показатели за енергийна ефективност. Това разширява разбирането за ролята на тези протеини извън класическите възпалителни механизми, като ги позиционира и като потенциални медиатори на клетъчния метаболизъм.

Не на последно място, разработеният модел за стратификация при пациенти с разстройства от аутистичния спектър, базиран на митохондриални показатели, представлява иновативен подход с потенциално клинично приложение, демонстриращ възможността за разграничаване на подгрупи пациенти, включително при наличие или липса на регрес.

В обобщение, дисертационният труд предоставя нови и оригинални данни за мултифакторната роля на CH13L1 и CH13L2 в патогенезата на възпалителни, неврологични и онкологични заболявания, като ги свързва както с имунния отговор, така и с клетъчния метаболизъм и туморната прогресия. Получените резултати аргументират потенциала им като биомаркери за диагностика, стратификация и проследяване на терапевтичния отговор, както и като възможни терапевтични таргети, подчертавайки значението на интегрирания мултидисциплинарен подход при изследване на сложни заболявания.

6. Автореферат

Намирам, че автореферата отразява адекватно и напълно съдържанието и основните заслуги на дисертационния труд.

7. Критични бележки

Основно ограничение е малкият размер на извадките в отделните групи, което намалява статистическата мощ и обобщаемостта на резултатите. Липсата на значими корелации в част от анализите вероятно се дължи именно на това. До известна степен намирам за проблематично наличието на потенциален bias при контролите - използване на postmortem ликвор (много проблематично!) и различни типове контроли между групите. При някои показатели (напр. CH3L2 в ликвор, PAC протеинови нива) данните са ограничени или под детекционния праг, което затруднява интерпретацията.

Наукометричен анализ на публикации и научна активност

Резултатите на проведеното комплексно проучване са представени в 17 научни публикации, от които 14 са публикувани в списания с импакт фактор (IF). Четири от тези публикации са в престижни Q1 списания с висок импакт фактор, като *Int. J. Mol. Sci.* (IF = 4.9) и *Frontiers in Immunology* (IF = 5.9). Общия брой цитирания е 166. Данните от дисертационния труд са изнесени на общо 30 научни форума, от които 15 са международни. Реализирането на дисертационния труд е осъществено с финансовата подкрепа на няколко вътреуниверситетски проекта, два национални и 1 европейски проект.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Дисертационният труд „Молекулио-биологични и имунологични проучвания върху хитиназноподобните протеини CH3L1 и CH3L2 в процеси на възпаление, туморогенеза и невродегенерация“ представя задълбочено изследване и внася нови знания за биологичната функция на CH3L1 и CH3L2 и тяхната връзка с клиничните показатели, което разширява възможностите за интегриран подход в медицината. Проф. Мария Казакова не само че отговаря на изискванията, но дори ги надвишава значително. Тя има 2,773 точки спрямо минимално изискваните 450 точки с което изпълнява всички изисквания за степен "Доктор на науките" по Правилник за академично развитие в МУ-Пловдив.

Поради гореизложеното давам положителна оценка и гласувам „за“ придобиване на научна степен „Доктор на науките“ в направление 7. Медицина, докторска програма „Медицинска биология“.

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

11.04.2026 г.

Рецензент:

/Проф . д-р Снежина М. Кандиларова/