

НАЦИОНАЛЕН ЦЕНТЪР ПО ЗАРАЗНИ И ПАРАЗИТНИ БОЛЕСТИ	
Изм. №	20.... г.
Вх. № <u>08-3/15 01</u>	<u>2024</u> г.
бул. "Янко Сакъзов" № 26 София 1504, тел: 9446999	

СТ А Н О В И Щ Е

На дисертационен труд за
придобиване на образователната и научна степен „доктор“
Научна област: 4. Природни науки, математика и информатика
Професионално направление: 4.3 Биологически науки
Научна специалност: 01.06.12 Микробиология

Тема на дисертационния труд: „Микробиологични, електронно-микроскопски и молекулярно-биологични методи за изследване на патогенезата при саркоидоза“

Автор на дисертационния труд: маг. Борислава Илиева Цафарова,
НАЦИОНАЛЕН ЦЕНТЪР ПО ЗАРАЗНИ И ПАРАЗИТНИ БОЛЕСТИ (НЦЗПБ), Отдел
“Микробиология”, Национална референтна лаборатория “Особено опасни бактериални инфекции” (ООБИ), сектор “Микробиом”

Научен ръководител: проф. дн Стефан Панайотов

Рецензент: проф. д-р Даниела Богданова Карашанова, Институт по оптически материали и технологии, Българска академия на науките, назначена за член на научното жури със заповед №582 от 01.12.2023 г. на Директора на НЦЗПБ, проф. д-р Ива Христова, дмн.

1. Биографични данни за докторанта

Борислава Цафарова завършва висшето си образование в Биологически факултет на Софийски университет „Св. Климент Охридски“. Тя има придобита бакалавърска степен по „Молекулярна биология“ през 2009 г. и две последователни магистърски степени в специалностите „Клетъчна биология и патология“, през 2013 г. и „Физиология на животните и човека“, през 2015 г. Те оформят и интересът ѝ към темата за едно рядко заболяване при човека – саркоидозата, като предопределят и по-нататъщото ѝ научно развитие чрез изработване на дисертационен труд в периода 2020 г. – 2023 г. в областта на изследване на патогенезата при саркоидоза.

2. Оценка за покриване на минималните критерии съгласно специфичните правила за придобиване на научни степени, определени в НЦЗПБ.

По време на докторантурата си Борислава Цафарова е положила необходимите изпити по специалността (в 2 части), английски език и компютърни технологии.

Успешно е завършила 6 специализирани курса по теми, свързани с проблемите, отразени в дисертационния труд, провела е стаж по трансмисионна електронна микроскопия – един от основните методи за охарактеризиране на изследваните проби в дисертацията и регулярно е отчитала извършената работа пред Колегиума на отдел „Микробиология“. Представила е резултатите от своята работа на 16 международни и 7 национални форума и е публикувала 7 публикации - самостоятелно (1 бр.) и в съавторство (7 бр.), от които 5 в международни списания и 3 в национални, както и един постерен доклад. На 25.09.2023 г. е представила дисертационния си труд на вътрешна защита пред Научния съвет на НЦЗПБ и е насочена към публична защита.

От представената справка за кредитните точки, събрани от дейностите през трите години на обучението ѝ в докторантура се вижда, че докторантката изпълнява минималните изисквания на ЗРАСРБ, правилниците за неговото приложение в РБ и НЦЗПБ, като надхвърля повече от три пъти минималния брой от 200 кредитни точки, изисквани от Правилника на НЦЗПБ - представени са 747 т. Положителен атестат за проведените и публикувани от докторантката изследвания са получените 13 цитата върху публикациите ѝ в периода на докторантурата.

3. Анализ на дисертационния труд.

Представеният ми за становище дисертационен труд е описан на 169 стандартни страници и е структуриран в следните 5 основни части: Увод, Литературен обзор, Материали и методи, Резултати и дискусия, Заключение и изводи. Формулирани са целта и задачите на дисертацията, а също е приложен и списък с литература, обхващащ 220 литературни източника. Дисертацията съдържа 42 фигури, 11 таблици и списък с използваните съкращения.

Дисертационният труд започва с кратък увод, в който докторантката представя обекта на своите изследванията – едно рядко заболяване при човека – саркоидозата. Още тук тя разкрива мотивацията за дейността си, свързана несъмнено с **актуалността** на темата, породена от липсата на достатъчно на брой изследвания в световен мащаб и яснота за причините на това рядко заболяване. Тук за първи път се формулира целта на дисертационния труд, а именно изследването на микробиома при пациенти със саркоидоза за установяване на основните фактори, обуславящи проявата на болестта, макар че целта е представена и самостоятелно след увода, заедно с поставените за изпълнение задачи. Следва обстоен литературен преглед, в който на основата на литературни данни са изяснени важни въпроси като епидемиологията на саркоидозата, нейните видове и клинични форми, проявите ѝ, начините за детекция и диагностициране,

както и прилаганите терапии и хипотезите за нейната етиология. Място е отделено на българския принос в установяването на причините на болестта, както и на дискусия за ролята на някои видове микобактерии (*Mycobacterium tuberculosis* и *Cutibacterium acnes*) за това.

Важна част от дисертацията описва изследваните материали, начините на тяхното добиване и пробоподготовка и приложените за изследването им методи – микробиологични, микроскопски, молекулярни и др. Ценен подход в изследванията е съчетаването на различните микроскопски методи за извличане на максимална информация за морфологията и микроструктурата на наблюдаваните обекти и установяване на пролиферацията на клетките.

Най-обширната част на дисертационния труд, обхващаща почти половината от обема му е посветена на получените многобройни резултати от микроскопските, хистологични и имунохистохимични, както и молекулярни (таргетно метагеномно секвениране на кръвни и биопсични проби от пациенти със саркоидоза; PCR изследвания за детекция на бактерии от род *Mycobacterium*, както и на *Toxoplasma gondii*) изследванията на тъканни, кръвни проби, смив и бронхоалвеоларен лаваж на пациенти със саркоидоза, туберкулоза, както и някои други заболявания с подобна симптоматика.

В хода на изследванията е приложен интересен подход с култивиране на кръв от здрави лица и диагностицирани със саркоидоза пациенти, който позволява да се направят важни изводи за кръвния микробиом при човека.

Традиционно, дисертационният труд завършва със заключение и изводи, направени на основа на получените експериментални резултати, справка за публикациите и участията в конференции на докторантката по темата на дисертацията и списък с литературните източници.

4. Авторефератът изготвен ли е съгласно изискванията, правилно ли отразява основните положения и научните приноси на ДТ?

Авторефератът е добре оформен и отговаря напълно на изискванията за обем и съдържание. Включва основните резултати на изследването и научните приноси на дисертационния труд.

5. Критични бележки и мотивирани препоръки за бъдещо използване на научните и научно-приложните приноси.

Не може да не отбележа на първо място, че дисертацията прави впечатление с големия обем извършени трудоемки и времеемки експерименти, добрия си стил и език, логичното изложение на научните факти и грамотното оформяне на текста.

Единственото несъответствие, което бих могла да отбележа е липсата на отделно формулирани приноси на дисертационния труд, въпреки, че той изобилства с такива. В подкрепа на това е самият факт, че се търси отговор на въпроса за връзката на саркоидозата с човешкия микробиом и се представят ценни резултати за тази рядка и слабо-изучена болест, както и приложените модификации в някои от подготвителните процедури, водещи до повишаване на ефективността на изследването (стр. 46: модифицирането на метода за изолиране на ДНК; стр. 48: метод за изолиране на ДНК от парафинови блокчета, без участие на ДНК-гликозилаза; стр. 73: оптимизация на PCR протокола за идентификация на *Toxoplasma gondii*; стр.95: описание на нов, подобен на матрьошка механизъм на микробна пролиферация).

Забележките ми по дисертацията са малобройни и основно редакционни и не касаят същността, достоверността и значението на получените резултати и дисертационния труд като цяло:

- 1) В надписа на Фиг. 12 външната мембрана (ОМ) по погрешка е отбелязана като вътрешна мембрана.
- 2) Времето на култивиране на представените клетки на фиг. 15 А и 15 В се различава в текста и в описанието под фигурата.
- 3) Фиг. 15 D, E се отнасят до СЕМ изследване, а в текста е отбелязано ТЕМ.
- 4) За изображенията на фиг. 18 и 19 е написано „електронограми“. Под това наименование обикновено се разбират изображения, получени от дифракционните режими на ТЕМ. В случая е по-подходящо да се нарекат „светло-полеви ТЕМ микрографии“.

Имам и следните въпроси:

- 1) Защо при микроскопския анализ (светлополева оптична микроскопия на стр. 89-90) на култивирана при стресови условия лизирана и филтрирана кръв от здрави доброволци цвета на клетките се променя с времето на култивиране?
- 2) Има ли връзка между пръчковидната форма на майчината клетка и заболяването при изследването на цяла култивирана кръв от пациенти със саркоидоза?

6. Заключение с ясно становище да се даде или не научната степен.

Представеният ми за оценка дисертационен труд представлява обширно и подробно изследване на архивни тъканни материали, както и свежи биопсични, кръвни и БАЛ от пациенти със саркоидоза и някои други белодробни заболявания. Аналитичните методи, техниките за пробоподготовка и вида на използваните материали

са прецизно подбрани, за да се получат надеждни и достоверни резултати за присъствието или не на микобактерии – преди всичко *Mycobacterium tuberculosis* и за *Cutibacterium acnes*, в изследваните образци, с което да се свърже пораждането на болестта саркоидоза. Породените и все още неизяснени въпроси в тази посока са добра предпоставка за развитие и задълбочаване на изследванията по темата.

Постигнатите резултати са публикувани в достатъчно на брой научни издания, част от които с висок импакт-фактор, представени са в много научни форуми, което заедно с успешно изпълнената образователна програма осигурява повече от три пъти от минималните кредитни точки, изисквани в ЗРАСРБ и Правилника за неговото прилагане. Направените забележки са редакционни и не оказват влияние върху стойността на дисертацията. Ето защо, напълно убедено препоръчвам на уважаемите членове на **Научното жури да присъдят на Борислава Илиева Цафарова образователната и научна степен „доктор” в професионално направление 4.3 Биологически науки, специалност 01.06.12 Микробиология.**

15.01.2024 г.

Изготвил становището:

/проф. д-р Даниела Карашанова/