

БИОАЛЕН ЦЕНТЪР  
ПО ЗАРАЗНИ И  
ПАРАЗИТНИ БОЛЕСТИ

4/35  
28.12.2012

## РЕЦЕНЗИЯ

на дисертационен труд за присъждане на научната степен „Доктор на науките“  
автор: Сакаров Т.Е. № 26  
– 130%, инд. № 446999

на тема „Механизми на регулация на Т-клетъчния имунен отговор и клиничното им значение“ с автор доц. д-р Мария Християнова Николова, дм

Дисертационният труд е посветен на важни за науката и медицинската практика проблеми. Основна цел е характеризирането на параметрите на ефективния Т-клетъчен имунен отговор като се използват подходящи конstellации от функционални молекули и фенотипни маркери, както и разкриването на някои регулаторни механизми с патогенетично значение при хроничните прогресиращи инфекции. Той е написан на 273 страници и онагледен с голям брой таблици и фигури. В края са представени няколко приложения, свързани главно с методичната част на използваните в хода на изследванията имунологични техники. Книгописът е съставен от 480 источника, 12 от които на български език.

Дисертационният труд е конструиран оригинално като изследваният материал е представен в три отделни части. Първата е озаглавена „Рецепторите SC5 и CD160 и участието им в регулацията на Т-клетъчния имунен отговор“. След кратък обзор по тази тема са представени собствените данни за характеризирането на двете молекули – SC5 и CD160. Изработено е моноклонално антитело срещу SC5, с помощта на което се доказва че тази молекула при здрави лица се експресира на повърхността на 5% от NK клетките, 10 % от Т лимфоцитите – както хелпери, така и супресори и от всички моноцити. При това всички Т лимфоцити, носители на SC5 имат фенотип на паметови клетки (CD45RO+). Тимоцитите и Т клетъчните лимфоми с фенотип CD4+CD8+CD1a+ също експресират интензивно тази молекула. Освен това интрацелуларно SC5 се установява при 100 % от Т лимфоцитите. Биохимичната характеристика на този маркер е следната: комплекс, съставен от един протеин с м.т. 96 kDa и два 60- kDa протеина: актинин, LSP-1 и виментин (с имуноблот се разграничават 2 ивици от 53 и 60 kDa), като SC5 разпознава уникален епитет в N-края на виментиновата молекула, който се визуализира както на повърхността на клетката, така и вътреклетъчно. Функционалната характеристика на тази молекула показва че тя представлява инхибиращ рецептор на повърхността на незрелите тимоцити и вероятно физиологичната роля на рецептора SC5 е да регулира пролиферацията на принципа на отрицателната обратна връзка. Моноклоналното антитело срещу SC5 идентифицира уникален по фенотипни, функционални и биохимични характеристики епитет на повърхността на

постактивационни/паметови Т лимфоцити и инхибира тяхната пролиферация. SC5 е туморен антиген и в този смисъл може да бъде вероятна мишена за антитуморната терапия.

Установено е че малигнените CD4+ Т лимфоцити на пациенти с лимфома на Sezary експресират инхибиращите рецептори с регулаторна функция SC5, ILT2 (CD85j) и p140 (CD158k) – факт, който успешно може да се използва за разграничаването на туморните клетки от нормалните CD4+ Т лимфоцити както в периферната кръв, така и в кожния тумор, а също и клетките при нетрансформиран Mycosis fungoides, тъй като p140 (CD158k) маркира само туморните клетки, а нормалните CD4+ Т клетки не го експресират, а експресията на SC5 и ILT2 отразява активационния статус на малигнените клетки и реактивни клонове.

Друга молекула, на която авторката посвещава внимание в първата част на дисертационния си труд е CD160. В резултат на дългогодишни проучвания, в които тя взема активно участие антигенът, разпознат от антителата BY55 и TM60 е класифициран като CD160 през 2002 г. на поредната среща по левкоцитно типизиране. В периферната кръв на здрави лица CD160 не се доказва върху CD4+ Т лимфоцити и се експресира от отделна фракция на CD8+Т клетки – CD3+CD8<sup>high</sup> със следния фенотип: CD28-CD62L-ILT2+CD95+(FasL)CD45RO+ и/или CD45RA<sup>high</sup>, съдържаща всички CD56+KIR+ клетки. За пръв път е установено че рецепторът CD160 усилва, без да индуцира антиген-зависимата пролиферация на CD8+ Т лимфоцити. Ко-стимулиращите ефекти на CD160 се осъществяват вероятно посредством взаимодействие с активираната тирозин-киназа p56<sup>lck</sup>. CD160 е GPI свързана молекула, MHC-I специфичен активиращ рецептор от NK клетъчен тип. Според авторката CD160 рецепторът има всички качества на рецептор с регулаторни функции в ефекторната фаза на Т-клетъчния имунен отговор: ограничена експресия върху Т лимфоцитите, широка специфичност към класически и некласически MHC молекули, способност за взаимодействие с HVEM (Herpes virus entry mediator) рецептора, няколко структурни варианта с различно действие. Всичко това прави тази молекула перспективна за изучаване с оглед на практическото ѝ приложение.

Втората част е озаглавена „Диференциация и баланс на Т-лимфоцитните субпопулации в хода на хронична инфекция”. Това е най-голямата по обем част, в която са описани голям брой експерименти, даващи основание за един нов поглед за участието на имунното възпаление при този вид заболявания. След като прави обширен обзор върху известните до този момент причини за нарушаване на имунния отговор

при хроничните инфекции, доц. Николова си поставя следните въпроси: 1. Кои са най-рационалните комбинации от фенотипни маркери за дефиниране на протективния отговор при персистиращите инфекции? 2. Доколко използваните маркери са информативни и по отношение на функционалния им потенциал? 3. Какво е значението на фенотипната и функционална хетерогенност на Т лимфоцитите при отделните персистиращи инфекции? 4. В каква степен антиген-специфичният отговор в условията на персистираща инфекция се отразява на нивото на общия Т клетъчен пул?

Собствените проучвания, целящи да внесат яснота по тези проблеми са проведени при изследването на няколко групи пациенти с персистиращи инфекции: HIV, EBV, HBV, CMV, хронична туберкулозна инфекция и хронична фокална одонтогенна инфекция (ФОИ) и сравнени с тези при здрави лица. като маркер за хронично имунно възпаление при всички тези групи е изследван CD38 – количествена експресия по антитяло-свързваща капацитет (ABC)/клетка от CD8 и CD4 Т лимфоцити. Първите данни от това изследване показват че е налице сигнификантно повишение на CD38 ABC върху CD8 Т лимфоцитите във всички изследвани групи, като най-голямо е увеличението при нелекувани пациенти с HIV инфекция и висок вирусен товар. Сравнението с CD4 Т лимфоцитите показва по-висока експресия на CD38 при тях. Сигнификантна активация на CD4 се установява при пациенти с високо антигенно натоварване - активна хронична HIV инфекция, нелекувана HIV инфекция и ФОИ. Лекуваните пациенти с HIV се разделят на три групи: висок вирусен товар и висока експресия на CD38, нисък вирусен товар и ниска експресия на CD38 и междинна група с нисък вирусен товар и висока експресия на CD38. Обяснение на последното наблюдение е вероятната репликация на вирус в депата или наличие на опортюнистична инфекция. Следващите проучвания показват че по отношение на динамиката на вирусния товар при лекувани HIV пациенти проследяването на CD38ABC/HLA-DR+/CD8 е по-информативно от проследяването само на CD38ABC/CD8, особено що се касае до критичния период 9-12 месец от началото на терапията. Особен интерес представляват пациентите с персистиращ вирусен товар и добър имуологичен отговор, тъй като при тях абсолютният брой на CD4 Т лимфоцитите въпреки че се повишава на втората година, на четвъртата остава непроменен, което може да бъде показател за налична опортюнистична инфекция.

Пионерни са проучванията за експресията на CD38ABC върху CD4 и CD8 Т лимфоцитите и при други персистиращи инфекции. Така напр. е установена много силна корелационна зависимост между вирусния товар и активацията на CD4 клетките,

докато такава зависимост липсва при експресията на CD38 върху CD8 Т лимфоцитите при болни с продължителна HBV инфекция. Според дисертантката тези данни подчертават значението на CD38ABC/CD4 като показател за патологично имунно възпаление в хода на хроничната активна инфекция. Сходна е находката и при пациенти с хронична ФОИ, където адекватното саниране довежда до понижаване на броя на CD38ABC/ CD4 Т клетките. При персистиращ хепатит след EBV инфекция е налице сигнificantno повишена експресия на CD38ABC върху CD8 Т лимфоцитите. Представените данни убедително показват че носителството на CD38ABC може да се използва като рутинен показател за диагностициране и проследяване на пациенти с хронично имунно възпаление.

Персистиращите инфекции и свързаното с тях имунно възпаление променят по различен начин при различните изследвани от авторката болести съотношенията в общия лимфоцитен пул. Така напр. най-значимо повишение на ефекторно-паметовите клетки CD4 в сравнение със здравите лица е установено при пациенти с хронична HBV инфекция, EBV хепатит, както и при болни с HIV с и без лечение. В същото време при пациенти с висок вирусен товар като тези с HIV без лечение, HBV и EBV се наблюдава значително намаление на наивните CD4 Т лимфоцити. Този ефект е още по-добре изразен при наивните CD8 Т лимфоцити и то при всички наблюдавани болни, вкл. и тези успешно лекувани за HIV. Това намаление се компенсира от масивно нарастване на ефекторно-паметовите лимфоцити при всички болни от HIV – лекувани и нелекувани, HBV, EBV, CMV. При болните от туберкулоза и вероятна латентна туберкулоза не се доказват подобни промени. Централно паметовите CD4 Т лимфоцити при болни от HBV значително намаляват, докато промените в централно паметовите CD8 Т лимфоцити са незначителни, с изключение на тези при болни от HIV с и без лечение. Логичен извод от тези проучвания е че за да се оцени степента на засягане на Т клетките при тези персистиращи инфекции е необходимо изследването на диференционния статус на CD4 и CD8 Т лимфоцитите. В този ред на мисли трябва да се подчертава значението на изследването на коекспресията на активационните рецептори CD27 и CD28 от CD8 Т лимфоцитите, тъй като тези маркери допълват и обогатяват информацията, получена от CD45RA/CCR7.

Следващите проучвания се отнасят до експресията на CD57 молекулата. Установено е че нивото на апоптотичните ефекторни клетки CD28-CD57+ със сигнificantno повищено при всички изследвани хронични инфекции. В същото време съотношението CD28-CD57+/CD27-CD28-, отразяващо съотношение между

апоптотични ефектори и широкия ефектор/ефектор паметов пул е доста постоянно при всички изследвани групи. Изводът от тази група експерименти е че едновременното използване на маркерите CD45RA/CD27/ CD28 (CD57) е подходящо за разкриването на характерните промени в CD8 Т популацията при хронични инфекции.

Доц. Николова в следващите си проучвания изследва съотношението между паметови и ефекторни клетки като показател за балансиран протективен имунен отговор. Пациентите с хронична HIV инфекция се отличават със значително намален процент на циркулиращите паметови CD27+CD45RA- CD8 Т клетки и увеличение на ефекторните CD27-CD45RA- клетки и крайно диференцираните CD27-CD45RA+ в сравнение със здравите, като съотношението паметови/ефекторни клетки е намалено значително в сравнение с контролната група здрави. Тези съотношения при болните с активна туберкулоза не са променени, но с налице намаление на паметовите CD27+CD45RA- CD4 Т клетки, без това да се отрази на съотношението паметови/ефекторни клетки. В същото време пациентите с латентна туберкулоза вследствие на професионален контакт имат значително повишение на това съотношение при CD4 Т клетките, докато тези с домашен контакт имат по-ниски стойности. Повищени са стойностите на съотношението паметови/ефекторни CD8 клетки в групата с професионален риск от латентна туберкулозна инфекция. В групата изследвали с домашен контакт на туберкулоза съотношението ефектори/крайно диференцирани CD4 Т клетки е намалено. Именно в тази група MTB-специфичният CD8 отговор към стимулация с RD1 пептиди (% IFN $\gamma$ +CD69+CD8+) е най-добре изразен, което я различава от групата с професионален контакт. Трябва да подчертая че това е първото по рода си съобщение за разграничаване на активна от латентна туберкулозна инфекция по фенотипната характеристика на CD4 и CD8 лимфоцитите в периферна кръв. То показва че протективният Т клетъчен отговор при туберкулоза е свързан CD8 лимфоцитите, тъй като именно при пациентите с овладяна инфекция (професионален и домашен контакт) се установяват антиген специфични CD8 клетки. При тази инфекция имunnата защита при хронично антигенно дразнене е свързана повече с паметовия пул, отколкото с поддържането на ефекторните клонове. Обратно - протективният отговор в групата с краткосрочно антигенно дразнене (домашен контакт) се характеризира с изтегляне на равновесието към ефекторния пул. В заключение съотношението CD27+CD45 RA-/ CD27-CD45 RA- CD8 лимфоцити може да бъде важен показател за разграничаване на протективния от неефективния имунен отговор при хроничните инфекции.

В серия от отлично направени експерименти е доказано че вирусният товар при пациентите с HIV инфекция като основна движеща сила на пролиферацията определя и модела на диференциацията на клетките. При пациентите с висок антигенен товар значимо нараства ефекторния (CD27-) за сметка на паметовия пул (CD27+). Това води до изчерпване на пролиферативния потенциал поради продължително постоянно стимулиране и като крайно перспектива – делеция на ефекторни клонове и липса на имунна памет. Функционалната характеристика на Т лимфоцитите в зависимост от антигенното натоварване е изследвана предимно с метода на стимулирана вътреклетъчна цитокинова експресия към съответния патоген и към неспецифичен дразнител – фитохемаглутинин или фиксирано анти-CD3 антитело. Използвани са синтезирани в България имунодоминанти епитопи на HIV, CMV и EBV, както и различни епитопи от областта RD1 и PPD при изследването на туберкулозна инфекция. Освен очакваното доминиране на CD8 отговор при вирусните инфекции и на CD4 отговор при туберкулоза се установяват и някои нови находки. При лицата с клинично проявена туберкулозна инфекция е палице мошен CD4 RD1 специфичен отговор, докато при домашен скорошен контакт преобладава CD8 RD1 специфичен отговор. По този начин се разграничават латентна от активна туберкулозна инфекция, които не могат да се разграничават с Quantiferon TB Gold теста.

Спонтанната секреция на IFN $\gamma$  от CD8 клетките е увеличена при всички изследвани хронични инфекции, докато тази от CD4 клетките е увеличена само при HIV инфекция. Неспецифично-стимулираната секреция на IFN $\gamma$  от CD8 клетките е увеличена само при вирусната инфекция, докато този ефект за CD4 клетките е значим само при болните с активна HIV инфекция. Изследването на експресията на цитолитичните протеини гранзим В и перфорин при болни с HIV и реактивирана EBV вирусна инфекция показва увеличен процент на цитотоксичните CD8 клетки положителни и за двата протеина, както и на междинните форми - (GzmB+Per-) CD8 при всички групи персистираща инфекция. Съотношението GzmB+Per+/ GzmB+Per-, което отразява узряването на цитотоксичните функции е непроменено в сравнение със здравите контроли при EBV и лекувани болни с HIV, но при болни от HIV без лечение е намалено. Становището на доц. Николова е че прекомерната стимулация води не само до ускорена диференциация и нарушен баланс между субпопулациите, но и създава условия за натрупване на нефункционални CD8 клетки с намален потенциал за експресия на цитокини и цитолизини.

Възстановяването на CD4 Т клетките след антиретровирусна терапия е различно при отделните пациенти с HIV. При едни от тях (група А – траен положителен ефект от терапията, повишение на абсолютния брой на CD4 Т и трайно намаление на вирусния товар) имунното възстановяване се характеризира с едновременно генериране на наивни CD4 клетки (CD45RO-CD62L+) и ефикасно намаление на Th2 субпопулацията, т.е. създаване на условия за Th1 цитокинов фон и стимулиране на ефективен антивирусен отговор.

В група Б (преходен положителен ефект или без ефект от терапията върху CD4 Т и вирусния товар) продължителното антигенно натоварване и имунната стимулация са довели до преобладаването на паметови CD4 Т клетки, формирани при Th2 излишък и натрупване на небратимо диференцирани Th2 клонове, което допринася за неуспеха на антиретровирусната терапия.

Възстановяването на CD8 Т клетките след антиретровирусна терапия също показва някои закономерности: динамиката на наивните лимфоцити в хода на терапията не се различава както между двете групи, така и в сравнение със здравите. В същото време изходните нива на ранните (CD28+CD57-) клетки е намален и в двете групи, а след лечение те продължават да са по-ниски от тези при здравите. Следователно антигенният товар се отразява предимно на недиференцираните лимфоцити CD28+ CD45RA+CD62L+ CD57- и тяхната динамика не е свързана с терапията. Динамиката на съотношението крайно диференцирани/междинни CD8 клетки отличава пациентите с положителен ефект от лечението. Фенотипната структура на HIV специфичните CD8T клетки след стимулация с Gag пептида, повтаря тази на общия пул, особено при болни без ефект от терапията, а именно висок дял на апоптотични протектори и липса на прекурсори – находка която означава изчерпан регенеративен потенциал и лош отговор към терапията.

Възстановяването на CD4 популацията след терапия показва по-голяма възможност на клетките за регенерация, докато процесът на възстановяване на CD8 клетките е по-труден и непълен. Намаляването на антигенното дразнене се отразява най-добре на крайно диференцираните склонни към апоптоза клетки - CD28-CD57+, а съотношението CD28-CD57-/ CD28-CD57+ разграничава много добре групите с персистиращ вирусен товар от тези със значително намалял товар след лечение.

Изследванията върху CD160 показват че това е функционална молекула, свързана с Т-лимфоцитната активация и пролиферация. Повишената експресия на CD160 вероятно е приспособителен механизъм за ефективен Т клетъчен отговор в

зависимост от степента на вирусния товар. При хроничните инфекции ниската експресия на този маркер е показател за неефективен и дори изчерпан CD8 Т отговор. При пациенти с висок вирусен товар, напр. илекувани HIV, нивото на CD160 корелира обратно на късните CD8 ефекторни клетки (CD27-CD28-CD160+), което може да е една от причините за неефективен CD8 Т отговор. Нещо повече, увеличеният дял на GzB+Per- CD8 Т при болни с висок и персистиращ вирусен товар корелира с процента CD160-CD8+ Т клетки. При лекуваните обаче болни с нисък товар количеството на GzB+Per+ корелира положително с процента CD160 експресирани късни (CD27-CD28-) CD8 Т ефекторни клетки. Експресията на CD160 от CD8 клетките е най-добрият прогностичен показател за отговор към антиретровирусната терапия. Тази популация при HIV положителни болни включва както CD27-CD28-, така и CD27+CD28- клетки, които експресират GzB и могат да секретират IFN $\gamma$  и е свързана с ефикасния CD8 Т клетъчен отговор при хроничната HIV инфекция.

Трета част. Регулаторни Т клетки (Treg) и антиген-специфичен Т лимфоцитен имунен отговор

Според хипотезата на авторката регулаторните Т клетки, които нарастват при хронична инфекция и имуно изтощение, са възможен механизъм за потискане на ефективния Т-клетъчен отговор. Тя доказва че при здрави хора регулаторните Т клетки имат диференциран ефект върху пролиферацията, мадурацията и апоптозата на CD8 Т лимфоцитите. При пациенти с хронична персистираща инфекция Treg са значително повишени в сравнение със здравите лица. За да обясни високото ниво на тези клетки при относително увеличения дял на ефекторни CD8 клетки и съответно намалено съотношение паметови/ефекторни клетки доц. Николова провежда серия от експерименти, с които доказва че при хронична HIV инфекция ефектите на Treg върху пролиферацията и диференциацията на CD8 повтарят зависимостите при здрави контроли: потенцират акумулирането на паметови клетки за сметка на диференциацията на ефекторните клетки. При здрави лица Treg инхибират поликлонално стимулираната от HIV пептиди цитокинова секреция на CD8 и премахването на Treg води до нарастване на тази секреция. При болни от HIV обаче цитокиновата секреция при същата опитна постановка е по-слаба и премахването на Treg няма значим ефект. В същото време експресията на PD1 върху поликлонално стимулирани CD8 от HIV+ пациенти е по-висока отколкото тази при здравите и не се влияе от наличието на Treg. На трето място Gag специфичните CD8 клетки

експресират високи нива на PD1 и PD-L1 както в присъствие, така и в отсъствие на Treg.

Treg и Treg/ CD39+ популациите при болни от HIV с и без лечение са значително по-високи от стойностите при здрави лица. Блокирането на CD39 върху Treg намалява наполовина медираната от Treg инхибиция на поликлоналната пролиферация на CD8 при лекувани HIV болни. Подобен ефект върху цитокиновата секреция на CD8 при блокиране на CD39 се наблюдава при нелекувани HIV пациенти в отговор на стимулация с Gag пептиди. Тези два експеримента показват че че инхибиращите ефекти на Treg при HIV ангажират ензима CD39.

Директното участие на аденоzина като медиатор на Treg е изследвано чрез ефекта на агониста на аденоzиновия receptor A2AR – CGS2168 върху анти-CD3 стимулирана пролиферация на CD4 и CD8 T клетки. Установена е дозо-зависима инхибиция на пролиферацията при здрави и HIV пациенти, значително по-изразена при нелекуваните болни. Високата чувствителност на CD4 и CD8 T клетките към аденоzина и съответно - на субпопулацията Treg/CD39+ в условията на изразена имунна активация, едновременно с високата плътност на CD39 върху Treg на положителните HIV пациенти обяснява важната роля на регулаторния път Treg/CD39/аденоzин при хронична HIV инфекция. Освен това субпопулацията Treg/CD39+ може да бъде и прогностичен маркер и потенциален обект за терапевтично модулиране. Високата експресия на CD39 върху Treg корелира директно с нивото на имунна активация (HLA-DR4+CD4) и вирусния товар при нелекуваните HIV пациенти. Особено показателна е обратната корелация между експресията на CD39 от Treg и CD4 AC както при лекувани, така и при нелекувани болни от HIV. Независимо от успешната антиретровирусна терапия процентът на Treg/CD39+ остава повишен в сравнение с негативните контроли и тази фракция продължава да има инхибиращ ефект върху CD8 клетките. В тази връзка са идентифицирани 14 полиморфизма на гена на CD39, свързани с различия в единични нуклеотиди. Четири от тях са установени при пациенти с дълго-непрогресираща HIV инфекция. Един от тях - SNP rs 11188513 е единственият, асоцииран с прогресията в две други кохортни от бялата раса. Един от алелите на този полиморфизъм - rs 11188513-C благоприятства по-бавната прогресия на HIV инфекцията. Допълнителните изследвания показват че този алел е свързан с по-ниска експресия на гена CD39. Така се доказва че алелът, свързан с по-бавна прогресия на тази инфекция и по-дълга преживяемост на инфицираните, определя и по-ниска експресия на гена CD39.

Проучванията на доц. Николова за пръв път доказват повишена експресия на CD39 от регулаторната популация CD4+CD25<sup>high</sup>FoxP3 по време на HIV инфекция. Тази експресия разграничава регулаторните клетки на HIV+ и HIV- лица, за разлика от експресията на CD39 от конвенционално активираните Т лимфоцити. Това е специфичен регулаторен механизъм, който се проявява по време на имунната активация и най-вероятно има значение за развитието на болестта. Тези данни са в подкрепа на търсенето на нови терапевтични средства, основани на регулаторната Т клетъчна популация, особено след идентифицирането на дискретни регулаторни субпопулации и определяне на функциите им на всеки етап от имунното възпаление, като по този начин не се застрашават хомеостатичната функция на Treg и имунната толерантност.

Във връзка с дисертационния труд са отпечатани 33 публикации, повечето от тях в списания с IF, като голяма част са цитирани многократно. Представени са и участия на авторката в 7 национални и международни проекти, в 3 от които тя е ръководител.

С формулираните теоретични и научно-приложни принципи съм съгласна.

В заключение: Настоящият труд има принос към:

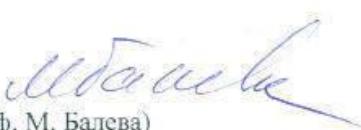
1. Идентификацията на някои функционални молекули на Т лимфоцитите с потенциално диагностично, прогностично и терапевтично значение
2. Към описание на протективния, ефикасен Т клетъчен отговор
3. Към изследването на механизмите на регулацията на Т клетъчния имунен отговор и патогенетичната им роля при имунното възпаление.

Въз основа на своите данни доц. Николова формулира:

1. Хипотеза за различните нива и механизми на регулация на Т-клетъчния имунен отговор и съответно - на възможности за диференцирания му контрол.
2. Диагностичен алгоритъм при пациенти с вероятно хронично имунно възпаление.

Оригиналността на настоящия дисертационен труд, голямата публистична активност на доц. Николова и важните изводи за медицинската наука и практика ми дават основание да предложа на почитаемите членове на уважаемото научно жури да присъди на доц. Николова научната степен „Доктор на медицинските науки”.

27.12.2012 г.

  
(проф. М. Балева)