Р Е Ц Е Н З И Я

НА ПРЕДСТАВЕНИЯ ДИСЕРТАЦИОНЕН ТРУД ОТ ИВАЙЛО АЛЕКСИЕВ ИВАНОВ ЗА ПОЛУЧАВАНЕ НА НАУЧНАТА И ОБРАЗОВАТЕЛНА СТЕПЕН „ДОКТОР" ПО СПЕЦИАЛНОСТТА ВИРУСОЛОГИЯ – ШИФЪР 01.06.13

ТЕМА: МОЛЕКУЛЯРНО-ВИРУСОЛОГИЧНО ХАРАКТЕРИЗИРАНЕ НА ЕПИДЕМИЯТА ОТ HIV-1 В БЪЛГАРИЯ ЧРЕЗ СЕКВЕНИРАНЕ И ФИЛОГЕНЕТИЧЕН АНАЛИЗ С НАУЧЕН РЪКОВОДИТЕЛ – ПРОФ. Д-Р ХРИСТО ТАСКОВ, ДМН

РЕЦЕНЗЕНТ: ОТ ПРОФ. Д-Р РАДКА АРГИРОВА, ДМН – ОТДЕЛ „ВИРУСОЛОГИЯ" – НЦЗПБ , ЧЛЕН НА НАУЧНОТО ЖУРИ СЪГЛАСНО ЗАПОВЕД N 55 от 19.05.2011 НА ДИРЕКТОРА НА НЦЗПБ

Дисертационният труд на биолог Ивайло Алексиев Иванов е представен за получаване на научната и образователна степен "доктор" по специалността "вирусология" – шифър 01.06.13 и е подготвен като свободна докторантура.

25-годишната давност на епидемията от HIV (по-точно HIV-1) в България налага равносметка – България е все още сред слабо засегнатите от HIV-инфекцията страни, като основната цел е тя да се запази такава. Необикновената изменчивост на HIV-1 и бурното развитие и въвеждането на молекулярно-вирусологичните лабораторни техники – вкл. секвенирането и филогенетичния анализ - поставиха неизяснени въпроси пред епидемията у нас – какви типове и суб-типове на HIV-1 характеризират епидемията у нас, кога и откъде те са въведени, какво знаем за циркулацията им от и към България, какво място заемат те сред глобалните виновници за епидемията, какъв е генетичният състав на "българските" HIV-1 сравнени с тези в съседните страни, какво е разпространението на отделните генотипове в различните уязвими групи и др. Именно с разрешаването на тези въпроси се е заел Ивайло Алексиев и още тук трябва да признаем, че той успешно се е справил с тази задача.

Дисертационният труд е в размер на 190 печатни страници, разпределени както следва: въведение – 2 стр., литературен обзор - 46 стр., цели и задачи – 2 стр., материали и методи – 28 стр., резултати и обсъждане – 55 стр.,

обща дискусия – 11 стр., резюме на резултатите (изводи) – 1 стр., заключение – 1 стр., декларация за оригиналност (приноси) – 2 стр., използвана литература – 23 стр., от които – 12 източника на бълг. език и 238 – на англ. език, списък на научни публикации, участия в национални и международни научни прояви с цитирания – 4 стр., участия в научни проекти, обучения и внедрявания – 2 стр. Представено е и съдържание на предложения труд, както и списък на използваните съкращения с уместни обяснения за част от тях.

ОБЩИ БЕЛЕЖКИ

Заглавието на дисертационния труд напълно отговаря на съдържанието му. Представени са всички раздели, които се изискват за дисертационен труд според приетите и утвърдени изисквания.

Въведението кратко, но подходящо описва молекулярното разнообразие на генетичните форми на HIV и движението на вирусните варианти, обуславящи локалните и глобалната епидемия. Подчертава се, че единствено генотипният анализ чрез методите на секвениране и филогенетичен анализ може да улови и обобщи характеристиките на циркулиращите вирусни варианти, вкл. и у нас. С тази дисертация се проучва уникалната 25-годишна HIV-1 епидемия у нас.

Литературният обзор съответства на темата на дисертационния труд и заема по-малко от 1/3 от целия труд. Освен описанието на история, класификация, репликация и жизнен цикъл на HIV, той съдържа и специфични специализирани данни за основните принципи на филогенетичния анализ и генетичното разнообразие и еволюция на HIV в глобален мащаб. Литературният обзор е изчерпателен, високо информативен и използва най-новата литература по биоинформатика в областта на HIV. Използваните и приложени фигури са много добре подбрани, а най-интересните са представени цветни за по-голяма яснота. Обзорът показва огромното познание на литературните източници, с които авторът свободно борави, а това е предпоставка за правилна интерпретация и на собствените си резултати. Уникалните молекулярно-биологични особености на HIV - вирионните ензими, протеиновите и гликопротеиновите структури, възможните генетични взаимодействия - са много добре представени, става ясно защо редица вирионни структури са подходящи като таргети за терапия или директно обуславят изменчивостта на вариантите на HIV. Дадени са и най-новите данни за мястото на интеграция на провирусната ДНК в клетъчната ДНК. В обзора е отделено място и на най-съвременните диагностични методи и тяхната чувствителност. Особено добро впечатление прави раздела „Произход и

номенклатура на HIV", където е внесена и съвсем неотдавна идентифицираната (2009 г.) група P въз основа на изолат от единичен случай. Обсъдено е значението на генетичното разнообразие на HIV за диагностиката, успеха на терапията, трансмисията на вирусите, прогресията на инфекцията и разработването на ваксина. Тези данни от последните 5-6 год. още повече повишават актуалността и значението на представения труд. Представени са и епидемиологичните данни за България с цитиране на бълг. автори. На стр. 56 – след завършване на обзора на литературата е даден кратък преход - изложение, в което ясно и логично да се вижда и защо именно са поставени следващите цели и задачи. С този кратък преход според мене литературният обзор трябваше да завърши.

Целта и задачите на дисертационния труд са добре формулирани, като авторът се е съобразил напълно с направените бележки при апробацията.

МАТЕРИАЛИ И МЕТОДИ:

Разделът 3.1 „Изследвани кръвни проби" би било добре да се онагледи с таблица, в която да има данни и за давност на откриване – бр. години, лекувани/нелекувани, ако са лекувани – с какви препарати по групи. Всъщност тези данни ги има в раздел „Резултати" и смисълът е да се разбере има ли сред използваните медикаменти NRTIs и/или PIs, които биха опорочили интерпретацията на резултатите, тъй като индивидуалната резистентност в резултат на HAART няма нищо общо с генетичното многообразие. В този раздел е изяснено защо и на какво основание е амплифициран участък от гена *pol.*

Като цяло, разделът „Материали и методи" е написан така, че да може да бъде възпроизведено всяко отделно изследване, дори на места звучи като протокол. Това дава основание за доверие и достоверност по отношение на получените резултати.

РЕЗУЛТАТИ И ОБСЪЖДАНЕ:

Основните резултати от изследването са отразени в редица таблици и фигури, сумарните резултати са отразени в Табл. 7. В нея са сравнени данните от интернет-базираните инструменти REGA-2 и COMET с тези от мануалния филогенетичен анализ. Тук трябва да се подчертае, че към момента на писане на дисертационния труд, все още в литературата липсват данни за изследвания с COMET, за които днес се счита, че имат предимство. Тези данни считам като принос както към характеристиката на HIVепидемията в България, така и като принос утвърждаващ COMET

(което днес е факт в литературата). Така, неидентифицирани остават 10 от изследваните 207 секвенции (по данни на COMET) срещу 29 (по данни на REGA2). Допълнително, в циркулиращите рекомбинантни форми е намерено точното място на рекомбинация с помощта на вероятностен подход и интернет-достъпен инструмент – GOBICS – в Германия. Отделно, чрез филогенетичния анализ са идентифицирани и три уникални рекомбинантни форми с независим произход. За да бъдат идентифицирани и те, вероятно е необходимо изследване на целия геном.

Чрез метода на молекулярния часовник докторантът е оценил времето до най-близкия общ предшественик за секвенциите от субтип B и A1, изолирани до 2006 г. от бълг. граждани.

Въз основа на всички получени данни, графично са представени различните генетични форми, циркулиращи в България, като за сравнение са представени и субтиповете и циркулиращите рекомбинантни форми в САШ, Европа, Германия, Франция, Кипър и Гърция. Най-разпространените у нас субтипове и циркулиращи рекомбинантни форми са анализирани и по начин на предаване, година на регистрация и място на придобиване на инфекцията. Интересен факт, констатиран от автора е, че около половината от вирусните варианти у нас са циркулиращи рекомбинантни форми.

В края на раздела „Резултати" е представена молекулярно-епидемиологична оценка на епидемията от HIV-1 в България – Табл. 9(A) и 9(B). Таблиците са изключително информативни и изчистени от ненужна информация.

ДИСКУСИЯ:

От обсъждането се вижда, че резултатите в сумарната таблица показват много добро сходство с молекулярно-вирусологичните данни – напр. по-редките или по-късно хронологически описани субтипове и ЦРФ са съответно внесени по-късно в страната. Става ясно от допълнителните обяснения за интернет-базираните данни до 2006 г., че публикуваните вече данни от 2008 г. са съобразени с прекласифицираните данни.

Авторът сам казва, че е възможно ограничение на представеното изследване поради използването само на участък от гена *pol*, а не на секвенции от целия вирусен геном. Това би могло да недооцени рекомбинацията при някои секвенции при циркулиращи рекомбинантни форми или да надцени популацията от чисти субтипове. Тези констатации обуславят необходимостта от непрекъснато продължаване на генетичните

изследвания и чрез тях – на изводите относно еволюцията на вируса и характеристиката на епидемията.

РЕЗЮМЕ НА РЕЗУЛТАТИТЕ (ИЗВОДИ) – взети са под внимание всички бележки от апробацията и са формулирани 6 достатъчно значими извода.
Напълно съм съгласна с представеното „Кратко резюме" на дисертационния труд – съгласно новото изискване, формулирано в последните правни документи.

Съгласна съм и с Декларацията за оригиналност (приносите) в дисертационния труд. Интересното е, че макар да се отнасят за бълг. епидемия, те допълнително осветляват еволюцията и изменчивостта на HIV глобално, както и са принос в утвърждаването на методите на биоинформатиката. Получените резултати са изцяло оригинален принос, валиден и годен за ползване не само у нас, но и от чуждестранни научни колективи и бази данни. Освен това, резултатите са отлична основа за проследяване на следващи молекулярно-вирусологични изменения в епидемията у нас.

Докторантът е участвал в 7 национални и международни обучителни курсове – основно по биоинформатика.

Резултатите в дисертационния труд са публикувани в 2 международни списания с импакт фактор и в 2 бълг. специализирани списания, в които Ивайло Алексиев е съавтор. Открити са 8 цитата в респектиращи международни списания. Докторантът е участвал в представянето на резултатите си на 13 национални и международни прояви, както и в две внедрявания.

Като цяло, получените резултати в представения ми вид са напълно достатъчни и много добре оформени за дисертационен труд за получаване на научната и образователна степен „доктор" по специалността „вирусология". Тези резултати са интересни, изпълнени с най-съвременни методи, представят изследванията на Ивайло Алексиев пълно, дават за първи път у нас характеристика на циркулиращите генетични варианти на HIV-1 в страната, очертаващи епидемията като уникална – т.е. различаваща се от епидемиите от HIV-1 в съседни и западно-европейски страни. Потвърждава се наблюдението от специалисти от СЗО, че глобалната епидемия е съставена от множество различаващи се по размер малки локални епидемии – в работата има достатъчно доказателства за това.

В процеса на запознаването ми с настоящия дисертационен труд зададох редица въпроси и направих предложения както по същество, така и от редакционен характер. Направените от мен бележки бяха взети под внимание.

Авторефератът представя основните резултати и изводи от дисертационния труд. Той е достатъчно информативен и относно използваните подходи и методи.

Нямам сериозни забележки в научно отношение, някои стилови или редакционни поправки биха подобрили четивността на текста. Но и не бива да забравяме, че биоинформатиката е сравнително нова наука, чиято терминология на бълг. език е в процес на развитие и доуточняване.

В заключение, предлагам на почитаемото научно жури да оцени най-високо предложения от Ивайло Алексиев дисертационен труд с пожелание тази изключително важна и полезна работа да бъде продължена.

София, 16.06.2011 г. Рецензент:

(Проф. д-р Р.Аргирова, дмн)