

До Председателя на
Научно жури, определено със
Заповед РД 38-649/09.10.2025 г.
на Ректора на СУ „Св. Кл. Охридски“

РЕЦЕНЗИЯ

по защита на дисертационен труд за придобиване на образователна и научна степен „доктор“, в професионално направление 4.2 Химически науки/Неорганична химия от **Марко Димитров Костадинов** докторант на самостоятелна подготовка към катедра „Неорганична химия“, Факултет по химия и фармация, СУ „Св. Климент Охридски“ на тема: **“Наноструктурирани и аморфни калций-съдържащи фосфати като потенциални имунологични адюванти ”**
с научен ръководител доц. дн Георги Йорданов

Рецензент: Проф. дн Стефан Въчев Панайотов

Научна специалност: Микробиология

Институция: Национален център по заразни и паразитни болести - София

Дисертацията е изготвена според изискванията за прилагане на Закона за развитие на академичния състав в Република България.

Декларирам, че нямам конфликт на интереси по смисъла на чл. 4, ал. 5 от ЗРАСРБ. Не съм използвал софтуер за изкуствен интелект за оценка на дисертационния труд.

Актуалност на темата

Адювантите играят важна роля във ваксините чрез засилване на имунния отговор към антигени, като по този начин подобряват ефикасността на ваксината. Те функционират чрез стимулиране на вродения имунитет, което води до по-силен и по-траен адаптивен имунен отговор. Сред различните разработени адюванти, алуминий-съдържащите съединения, като алуминиев хидроксид и алуминиев фосфат, са най-широко използваните във ваксините за хора от 20-те години на ХХ век. Тези адюванти са доказали ефективността си при повишаване на производството на антитела, но тяхната

употреба е свързана и с предизвикателства, включително потенциални странични ефекти като локално възпаление и системна токсичност, особено при дългосрочна експозиция.

Дисертацията изследва потенциала на наноструктурирани и аморфни калций-съдържащи фосфати като алтернативни имунологични адюванти. Калциевите фосфати (CaP) са естествено срещащи се минерали в човешкото тяло, особено в костите и зъбите, и представляват интерес за биомедицински приложения поради тяхната биосъвместимост и биоразградимост. Интересът към калциевите фосфати като адюванти произтича от потенциалните им предимства пред традиционните адюванти на базата на алуминий, включително по-ниска токсичност, биоразградимост и способността им да засилват както хуморалния, така и клетъчния имуен отговор, които са критични за ваксини, насочени към вътреклетъчни патогени.

Няколко български фирми в миналото и сега разработват и произвеждат ваксини – Бул-Био НЦЗПБ, Биовет, Хювефарма и др. Разработването и изпитването на нови адюванти за ваксини е актуална, благодатна и интересна тема за изследване, която има широк фундаментален и практически потенциал.

Общо описание на проекта за дисертационен труд

Дисертационният труд съдържа 119 страници, 80 фигури и 19 таблици. Библиографията включва 127 литературни източника. Дисертацията е структурирана стандартно и включва: Увод, Литературен обзор, Цел и задачи, Материали и методи, Резултати и дискусия, Заключение, Изводи и Приноси.

Дисертационният труд е написан много грамотно. Резултатите са добре визуализирани с микроскопски снимки и графики.

Литературният обзор, подробно и със стегнат стил описва състоянието на изследванията по проблема.

Цел и задачи. Целта на дисертационния труд е ясно формулирана – „разработването на процедури за получаване на суспензионни системи за потенциално приложение като имунологични адюванти на основата на калций-съдържащи аморфни и наноструктурирани фосфати“.

Формулирани са три задачи за изпълнение.

Материалите и методите са подробно описани. Описани са и са приложени широк кръг от методи, което прави изследването мултидисциплинарно. От описанието личи високото ниво на лабораторна компетентност на дисертанта.

Резултати и дискусия. Проведени са широк кръг от задълбочени изследвания и са получени значими резултати. Резултатите са много хубаво илюстрирани с фигури и снимков материал. Особено внимание е обърнато на синтеза и характеризирането на наноструктурирани и аморфни калциеви фосфати и техния потенциал като адсорбенти на протеини. Адсорбцията на протеин е ключов механизъм, чрез който адювантите могат да подобрят имунните отговори, тъй като помага при представянето на антигени на имунната система. Различни калций-съдържащи фосфати са получени чрез контролирано утаяване при стайна температура с последващо нагряване на получените суспензии при различни условия. Получените материали са изследвани с различни методи с цел получаване на информация за кристалната структура и фазовия състав, микроморфологията им, адсорбцията на моделен протеин и др.

Значимите научни резултати от дисертацията биха могли да се обобщят както следва:

- Получени са суспензии на различни калциево-магнезиеви фосфати при различни изходни съотношения Ca/Mg. Суспензиите са получени при контролирано утаяване на смесени калциево-магнезиеви разтвори с разтвор на натриев хидрогенфосфат при стайна температура с последващо автоклавиране при 114-116°C за минимум 1 час. При определени съотношения са получени аморфен калциево-магнезиев фосфат и нанокристален магнезиев уитлокит, които са с относително голям адсорбционен капацитет за използвания моделен протеин (албумин), което е предпоставка за потенциалното им приложение като носители на протеини, в частност като имунологични адюванти.

- Установено е, че при прилагане на същата процедура, полученият при утаяването брушит се трансформира в смес от монетит и нанокристален апатит при последващото нагряване. Изследвани са ефектите на някои експериментални параметри върху адсорбционната способност на получените суспензии, сред които и ефекти на „стареене“ на утайката от брушит преди автоклавирането и „стареене“ след автоклавирането (преди провеждане на адсорбционните експерименти). Получените данни са от значение за намиране на оптималните условия за получаване на суспензионен адсорбент за протеин с по-голям адсорбционен капацитет. Установена е

трудна възпроизводимост на синтезите в някои случаи, което се отдава на липсата на разбъркване по време на автоклавирането.

- Разработен е протокол за получаване на стерилни суспензии от калциев фосфат с двуетапно нагряване на брушитни суспензии. Като първи етап се прилага нагряване на кипяща водна баня за 30 минути, последвано от втори етап – автоклавиране за 1 час. Двуетапното нагряване повишава възпроизводимостта на резултатите. Установено е, че по време на първия етап става превръщане на брушита в октакалциев фосфат, който след това се трансформира в смес от апатит и монетит. Автоклавирането във втория етап осигурява стерилност на суспензиите, което е необходимо условие за приложението им във формулировки за парентерално въвеждане.

- Установена е причината за повишена адсорбция на протеин в някои от суспензиите в присъствието на Трис буфер. Повишаването на рН при прибавяне на буфера води до допълнителна преципитация на неутаен при ниското рН калциев фосфат, който служи като допълнителен адсорбент.

- Разработена е процедура за получаване на наноструктурирани апатити в суспензия с различна степен на калциев дефицит. Процедурата е бърза и води до получаването на една кристална фаза (апатит) без примес от монетит. Изследвани са ефектите на два различни метода за стерилизация – автоклавиране и гама-облъчване. Установено е, че гама-облъчването не намалява високия адсорбционен капацитет на ненагряваните суспензии (над 90%) и няма забележим ефект върху морфологията на наноструктурите. Автоклавирането повишава индекса на кристалност на калциевия фосфат и намалява адсорбционния капацитет.

Общото впечатление от дисертацията е, че е извършена системна и прецизна изследователска работа, като целта и задачите на дисертационния труд са постигнати. Дисертацията е много добре оформена. В предварителната рецензия обърнах внимание за допълнителна работа по литературния обзор, за по-детайлно разглеждане на някои литературни данни, свързани със задачите на дисертационния труд. Забележката е взета под внимание за карйния вариант на дисертацията.

Получените резултати за различните калций-съдържащи фосфатни суспензии като адсорбенти на протеини са интересни и насърчителни, като подобен род изследвания със сигурност могат да бъдат продължени в бъдеще и разширени по отношение на други фосфати. Считаю, че изследванията по дисертацията биха били от

интерес както за химици, така и за имунолози и микробиолози като потенциални ползватели на резултатите и получените материали за бъдещи имунологични изследвания.

Публикации и личен принос на докторанта

По темата на дисертацията кандидат докторанта Марко Костадинов има публикувани две статии в списания с ранг Q1. В биографичните данни на докторанта са цитирани авторство и съавторство в повече публикации. Набраните кредитни точки на 100% покриват изискванията от необходимия минимум за защита на дисертационен труд.

Видно е, че докторантът има основен принос за разработването на предложената тема за дисертационен труд. Той е положил особено старание за усвояване и прилагане на иновативни методи за решаване на научни задачи.

Заклучение:

От представените материали по дисертацията е видимо, че докторантът **Марко Костадинов** е проявил усърдие, организираност и проведените изследвания са негово лично дело. Убедено препоръчвам на Научното жури да присъди научната и образователна степен “доктор” на Марко Димитров Костадинов в област на висшето образование 4. „Природни науки, математика и информатика“, професионално направление 4.2 Химически науки/Неорганична химия.

София, 15/12/2025 г.

Изготвил рецензията:

/проф. дн Стефан Панайотов /