

РЕЦЕНЗИЯ

**на дисертационния труд на Надежда Ангелова Ангелова
на тема „Получаване и охарактеризиране на наноструктурирани желязо (III)-
съдържащи хидроксифосфати като потенциални ваксинални адюванти”,
представен за присъждане на образователната и научна степен „доктор”**

Рецензент: проф. дхн Иван Панайотов

Алуминиевите оксихидроксидами и хидроксифосфати се използват като ваксинални адюванти от почти столетие без при това да има пълно съгласие относно механизмите на действието и токсичността им. Целта на дисертационния труд е получаването и охарактеризирането на нови гелни суспензии, съдържащи наноструктурирани хидроксифосфати на желязо (III) с различен състав и определени характеристики за потенциалното им приложение като ваксинални адюванти с балансиран клетъчен имунен отговор. Изследванията на избраните наноразмерни структури следват традиционния прагматичен подход – рецепти за получаването им, охарактеризиране, поведение *in vivo*. Акцентът в дисертацията е охарактеризиране на получените лиофобни колоидни структури с помощта на съществуващите днес експериментални методи. За определяне на състава и организацията им с успех са използвани трансмисионна електронна микроскопия, енергийно-дисперсионна рентгенова спектроскопия, прахов рентгено-дифракционен анализ, инфрачервена спектроскопия. Информация за електрическите заряди на частичките е получена чрез измерване на дзета-потенциала им. За определяне на размера на агрегатите от наночастици е използван оптичен микроскоп със странично осветление.

Ще изложа някои от най-съществените резултати в дисертацията заедно с бележките и коментарите си към тях.

Литературният обзор, структуриран въз основа на 156 източника в параграф 2 на 48 от общо 107 страници дава много добра представа за състоянието на областта на изследването. Изложението показва, че дисертантката има сериозни познания върху

вакциналните адюванти, методите за получаването и охарактеризирането им, съществуващите идеи и представи за механизмите на действието им, страничните ефекти и фармакокинетиката им.

В параграф 3 са ясно формулирани целите и задачите на дисертацията, а в параграф 4 - материалите и методите, използвани за решаването им. Изложението им потвърждава добрата химична и биологична подготовка на дисертантката.

Резултатите и дискусията им са представени в параграф 5 на 43 от общо 107 страници. По важните от тях са както следва:

- Получени са гелни суспензии от наноструктурирани смесени Fe(III)/Al(III) хидроксифосфати с различно молно съотношение Fe/Al чрез съутаяване от смесени разтвори на алуминиев хлорид и ферихлорид при подходящо подбрани и контролирани условия (температура, скорост на разбъркване, скорост на прибавяне на реагентите, контрол на рН на системата в хода на утаяването). Получените Fe/Al хидроксифосфати се състоят от първични дисковидни наноразмерни частици (20-40 nm), агрегирани в микро-размерни (1-20 μm) вторични частици (диспергирани в среда с физиологична йонна сила), чиито ултраструктура и размери са сходни с тези в комерсиалните ваксини алуминиево фосфатни адюванти.

- Установено е, че фосфатният адювантен гел адсорбира в по-голяма степен моделен протеин (серум албумин) в сравнение с алуминиев фосфатен гел, получен при еднакви други условия.

- Получени са гелни суспензии от наноструктурирани желязо (III) хидроксифосфати с различно молно съотношение Fe/P и са стерилизирани чрез автоклавиране или гама-облъчване.

- Новополучените хидроксифосфатни гелни суспензии след стерилизация чрез автоклавиране, са с възпроизводимы характеристики, което е важно изискване за тяхното потенциално приложение като вакцинални адюванти.

Ще отделя специално внимание на експерименталните резултати и разсъждения, относно взаимодействието на избрания моделен протеин HSA с хидроксифосфатните агрегати. От наличните данни за Le-ефикасността на натоваване с HSA (фиг. 5.13) се определя количеството на свързан протеин от 1 mmol адювантен агрегат (фиг. 5.14) Що се отнася до взаимодействието протеин-адювант е много трудно да се различат възможните

механизми на свързване, капсулиране и адсорбция. Едно изследване на кинетиката на инкубация на хидроксифосфатните агрегати с HSA, която достига до насищане за един час (стр. 62 от дисертацията) като функция на размера и морфологията на агрегатите би могло да донесе полезна информация. Какви експерименти за изясняване на природата на взаимодействието са планирани, както четем на стр. 19 от автореферата? За да се отговори на подобни въпроси могат да бъдат полезни изследвания на по-прости моделни системи – напр. монослой от HSA върху подложка водна дисперсия на адюванта.

Какъв е механизма на разграждането на адювантните частици в разтвор от натриев цитрат, използвано като тест в производството? Как зависи кинетиката на разграждане, проследявана по светоразсейването, от концентрацията на цитрата? Достига ли се при достатъчно ниски концентрации на цитрата до дифузионно определен режим на разграждане? Третирането на опитните данни с помощта на подходящ математически модел на дифузионно определен режим би позволило оценяването на ролята на дифузията на цитратните молекули в дисперсната среда и фаза. Как зависи кинетиката от размера и организацията на адювантните агрегати? Кинетичната крива на Фиг. 5.17 загатва за наличието на два режима (S-образен и параболичен?), които може да се припишат на различни етапи на разграждане до разтворими цитратни комплекси. Може ли от Фиг. 5.17 да се оцени порядъка на тези кинетични етапи?

В заключение на краткия преглед на съдържанието на дисертацията, оценявам високо качеството на използваните подходи, получените резултати и обещаващите възможности за приложението им. Дисертацията е написана на английски. Харесва ли ни или не, английският е съвременния *lingua franca* на научната общност. Авторефератът е на български.

Дисертационният труд е много добре оформен. Освен неизбежните неголям брой печатни грешки, ще отбележа и някои езикови неточности:

- Стр. 30 от дисертацията – „Langmuir develops a mathematical explanation of the adsorption”. When constructing a mathematical model it is necessary to make a certain number of simplifications. That why, the term “mathematical model” is favored over the term “mathematical theory”.

- Стр. 21 от автореферата - „процесът (на адсорбция) не е съвсем равновесен“

- На същата страница - „адсорбираното количество протеин да се плотира спрямо концентрацията“ и др.

В основата на дисертационния труд са 3 научни публикации, от които 1 в централното списание Colloids and Surfaces A. Материалите по дисертацията са докладвани на 1 в чужбина и 6 в България научни форуми.

Дисертантката Надежда Ангелова Ангелова е била ръководена компетентно от доц. Георги Йорданов. Личното ми впечатление при предварителното запознаване с работата ѝ е, че дисертационния труд е в голяма степен нейно дело.

Авторефератът е направен съгласно изискванията и правилно отразява основните резултати и приноси на дисертационния труд.

В заключение, представената ми за рецензия дисертация напълно отговаря на изискванията на Закона за развитие на академичния състав в Република България (ЗРАСРБ), Правилника за приложението му и Правилника за условията и реда за придобиване на научни степени и заемане на академични длъжности в СУ „Св. Климент Охридски“. Въз основа на всичко изложено до тук, препоръчвам на уважаемото жури да присъди единодушно на Надежда Ангелова Ангелова образователната и научна степен „доктор“.

София, 15.04. 2019 г.

проф. дхн Ив. Панайотов