

РЕЦЕНЗИЯ

от доцент д-р Анастас Димитров Пашов, Департамент по имунология, Институт по микробиология „Акад. Стефан Ангелов“, БАН

Относно: Аprobация на дисертационен труд за защита и придобиване на образователната и научна степен „Доктор“, по Професионално направление: 4.3. "Биологични науки", По научна специалност: "Имунология" - 01.06.23.

Тема на дисертационния труд: „Нов подход за лечение на миши модел на меланом чрез епитоп-специфично туморно инхибиране“

Автор на дисертационния труд: Емилия Захария Стоянова, редовен докторант в Институт по Микробиология „Стефан Ангелов“ БАН

Научен ръководител: Проф. д-р Андрей Иванов Чорбанов, дб

Актуалност и значимост на дисертационния труд:

Меланомата е една от най-агресивните форми на рак на кожата с висок метастатичен потенциал. Въпреки напредъка в терапиите, прогнозата за пациентите с напреднал меланом остава лоша. Разработването на нови подходи за лечение, особено такива, които се фокусират върху специфични туморни антигени и активират имунната система, е от изключителна важност. Дисертационният труд на Емилия Стоянова адресира точно тази необходимост, предлагайки нов подход за имунотерапия на базата на хемоцианинови ваксини в миши модел на меланом. Приложението на хемоцианини при имунотерапия на меланом не е новост, но съответните механизми на имуномодулация не са докрай изяснени. Това прави темата актуална и значима за съвременната онкоимунология. От регионална значимост е изследването на хемоцианини конкретно от *Rapana thomasi* и *Helix aspersa*, видове разпространени в България, за което у нас съществува школа с интересни резултати.

Структура на дисертационния труд:

Дисертацията е структурирана в стандартен формат, включващ увод, литературен обзор, цел и задачи, материали и методи, резултати, дискусия, изводи и използвана литература. Общият обем е 139 страници, като са използвани 134 литературни източника, от които 34% са публикувани в последните 5 години. Дисертацията е онагледена с 52 фигури.

Литературният обзор е обширен и добре структуриран, покривайки ключови аспекти на туморната патофизиология, рака на кожата, имунологията на рака, както и

съвременните подходи за лечение на меланом. Особено внимание е отделено на тумор-асоциираните въглехидратни антигени и потенциала на природните продукти като противоракови агенти, с фокус върху хемоцианините. Специален раздел разглежда мишите модели в онкологията. Прави добро впечатление богатството и дълбочината на обзора на тази изключително сложна и бързо развиваща се интердисциплинарна област. Дисертантката умело обхваща широката тематика на туморната имунология и без излишно многословие успява да се фокусира върху конкретния проблем на функционалността на хемоцианините като носители на епитопи и потенциалната им роля в създаването на туморни ваксини.

Целта на дисертацията - разработване на нов терапевтичен подход за лечение на меланом чрез използване на хемоцианини и епитоп-специфични ваксини, е много конкретна и ясна, със силно приложен характер. В действителност, интерпретацията на резултатите насочва към интересни теоретични предизвикателства и като цяло работата има повече теоретичен характер отколкото целта предполага. За постигането на целите са дефинирани 4 групи задачи: 1) разработване на експериментален миши модел на меланом, 2) изследване на анти-туморните свойства на RtH и HaH в B16F10 миши модел на меланом, 3) синтез и химическо конюгиране на пептиден мимотоп на GD3 към хемоцианиновите молекули и анализ на получените химерни молекули (RtH-GD3P4 и HaH-GD3P4), 4) изследване на терапевтичния ефект на конструирани противоракови ваксини RtH-GD3P4 и HaH-GD3P4 при B16F10 миши модел на меланом. Задачите са логично структурирани и обхващат както *in vitro*, така и *in vivo* експерименти.

Методологията включва впечатляващо широк спектър от изчерпателно описани съвременни имунологични, биохимични (разработването на конюгирани ваксини с хемоцианини) и молекулярно-биологични техники както и миши модел на меланом. Изобилието от експериментални подходи отличава тази дисертация и предполага високо методично ниво достигнато от дисертантката.

Резултатите са представени подробно и са отлично илюстрирани. Ключовите експерименти имат като резултат:

1. Успешно изолиране и пречистване на хемоцианини от *Rapana thomasiana* (RtH) и *Helix aspersa* (HaH).

2. Демонстриране на антитуморен ефект на хемоцианините в миши модел на меланом.

3. Разработване на конюгирани ваксини, съдържащи GD3-мимитиращ пептид и хемоцианини. Дизайнът на пептидния мимотоп и неговата синтеза не са част от дисертацията. Тук се включва успешното конюгирането на хемоцианините с пептида.

4. Въвеждане и определяне на параметрите на миши модел на меланом и схема за терапевтична имунизация. Тествани са няколко схеми: класическа терапевтична имунизация при развит тумор, интензивна терапия с приложение паралелно с развитието на тумора от най-ранните му етапи и терапия с претретиране (сенсibiliзация).

4. Показване на ефективността на ваксините в забавяне на туморния растеж и удължаване на преживяемостта на експерименталните животни. Установено е, че схемата с претретиране дава по-слаб ефект. Тези резултати са в подкрепа на преди установения факт, че хемоцианините, приложени самостоятелно, имат ефекта на противотуморни ваксини.

5. Анализ на имунния отговор, индуциран от терапията, включително генериране на тумор-специфични антитела и цитотоксични Т-лимфоцити.

Дискусията е задълбочена и критична, като авторката успешно интерпретира получените резултати в контекста на съвременните научни познания.

Изводите са ясно формулирани и отразяват основните постижения на дисертационния труд. Прави ми добро впечатление липсата на, иначе традиционния, раздел – приноси, които трябва да се определят от научната общност и ефекта на изследването върху развитието на областта. За това трябва известно време за да се отчете, например, нивото на цитиране. По мое мнение, основните приноси на дисертацията са 1) характеризирането на ефекта от хемоцианини от широко разпространени в България видове върху развитието на миши модел на меланом и 2) данни за връзка между стимулиране на ИгМ отговор, НК клетъчна активация и противотуморен ефект при хемоцианини без добавен епитоп. Съществен е приносът на дисертационния труд и като източник на множество нови въпроси и потенциално много интересни хипотези, които трябва тепърва да се проверят.

Като цяло, обемът и значимостта на дисертационния труд съответства и надхвърля необходимото за дисертация за присъждане на научната степен доктор..

Критични бележки и въпроси:

1. Интересен е фактът, че противотуморния ефект корелира с индукцията на ИгМ антитялов отговор при хемоцианините сами, но не и при ваксините. Има ли дисертантката хипотеза за причините за тази разлика?
2. Как се интерпретират резултатите от цитокиновите нива в серума при хемоцианините и при конюгатите поотделно и в сравнение?
3. Кои са вероятните прицелни антигени на цитотоксичните клетки индуцирани от конюгатите дори и в животни без тумори?
4. Как дисертантката вижда възможността за транслиране на тези резултати към клинични изпитвания при хора?

Заклучение:

Дисертационният труд на Емилия Захария Стоянова представлява задълбочено и иновативно изследване в областта на имунотерапията на меланома. Получените

резултати имат както фундаментално, така и потенциално приложно значение. Авторката демонстрира отлично познаване на научната литература, владее на съвременни експериментални методи и способност за критичен анализ на резултатите.

Въз основа на гореизложеното, убедено препоръчвам присъждането на Емилия Захария Стоянова на научно-образователната степен „доктор“. Аз категорично гласувам ЗА присъждането на степента и пожелавам на докторантката да продължи със заниманията си в полето на туморната имунология.

доц. д-р Анастас Димитров Пашов

09.01.2025г.