

РЕЦЕНЗИЯ

От: проф. Радостина Ивайлова Александрова, доктор, Ръководител на група в секция „Патология” в Института по експериментална морфология, патология и антропология с музей – БАН, хоноруван преподавател в Биологическия факултет на СУ „Св. Кл. Охридски”; лектор в Училището за докторанти към Центъра за обучение на БАН - член на Научното жури съгласно заповед № I – 97/02.10.2019 г. на Директора на Института по микробиология „Стефан Ангелов” – БАН;

На: Дисертационен труд за присъждане на образователната и научна степен „Доктор” на тема: „*Насочване на моделен антиген от грипен вирус към антиген-представящи клетки чрез генетично-конструирани химерни молекули*”;

Докторант: Ива Иванова Иванова (Институт по микробиология „Стефан Ангелов” - БАН;

Научен ръководител: доц. Андрей Чорбанов, доктор (Институт по микробиология „Стефан Ангелов” – БАН)

1. Актуалност и значимост на дисертационния труд

Предоставеният ми за рецензиране дисертационен труд работа е посветена на една изключително актуална тема – необходимостта от ефективна имунопрофилактика на грипните заболявания. Неслучайно на 11 март 2019 г. СЗО даде ход на Глобалната стратегия за борба с грипа за периода 2019-2030 г., насочена към защита на хората във всички страни от заплахата на това заболяване. Целта на стратегията е да бъде предотвратен сезонният грип, да се установи контрол върху разпространението на грипния вирус от животни към хора и да се подгответ за следващата грипна пандемия. В изработената рамка СЗО препоръчва на държавите и партньорите да подхождат към грипа цялостно - от наблюдението до превенцията и контрола на болестта - с цел подобряване на профилактиката на сезонния грип и готовност при възникване на бъдещи пандемии (<https://www.who.int/influenza/en/>).

Именно благородното желание на докторанта и нейния научен ръководител да дадат своя принос за изработването на ново поколение иновативни генноинженерни ефективни противогрипни ваксини, с които да бъдат избегнати недостатъците на използваните в момента в клиничната практика ваксини, ги е вдъхновило за подготовкянето на представения дисертационен труд. Темата е в съответствие с Националната програма за Развитие на научните изследвания в Република България 2017-2013, както и с приоритетите на Европейската програма „Хоризонт 2020”, тъй ще допринесе за подобряването на здравето и повишаването на качеството на живота.

2. Преглед на дисертационния труд

Дисертационният труд е написан на 166 страници и включва: Заглавна страница (1 стр.), Съдържание (2 стр.), Списък на използваните съкращения (2 стр.), Въведение (2 стр.), Литературен обзор (54 стр.), Цели и задачи (1 стр.), Материали и методи (31 стр.), Резултати (31 стр.), Дискусия (12 стр.), Изводи (2 стр.), Приноси (2 стр.), Списък на публикации и участия в научни форуми във връзка с дисертационния труд (2), Използвана литература (25 стр.).

Още във **Въведението** Ива Иванова запознава читателите със същността и предимствата на антивирусните ДНК ваксини, като обещаваща нова стратегия за ваксинална имунопрофилактика. В обобщен вид Ива Иванова представя създадената и изследвана при подготовката на дисертационния труд нова генетична ваксина – от създаването ѝ като ДНК химерна молекула, кодираща Т- и В-клетъчни епитопи на пептид от вътрешния участък на хемаглутинина на грипен вирус тип A, свързани със секвенции кодиращи едноверижни вариабилни фрагменти на антитела (scFv), специфични за костимулирация В клетъчен рецептор за комплемент 1 и 2 (CR1/2); през интегрирането ѝ в еукариотна експресионна векторна система до изпитването ѝ като гола ДНК ваксина в миша (див тип (WT) и CR1/2 KO мишки) и в хуманизирана миша (NOD-SCID мишки) система.

Литературния обзор условно може да бъде разделен на три части: Първата част е посветена на грипа и грипния вирус. В нея са представени исторически сведения за това заболяване, съвременни данни за етиологията и биологичните свойства на неговия причинител, за структурата и организацията на вириона и вирусния геном. Във втората част са разгледани ваксините – тяхната класификация, предимствата и недостатъците

на отделните видове, начинът на получаването им. Внимание е отделено на използваните в момента традиционни противогрипни ваксини (тривалентната инактивирана грипна ваксина и живата атенуирана вирусна ваксина), както и на адjuвантите. Третата част съдържа информация за противогрипните ДНК ваксини – представени са техните предимства и предизвикателства; подходите за получаването им; начините на въвеждането им, които са от особена важност за ефективността им, тъй като определят типовете клетки, които ще бъдат трансфектирани. В тази част са разгледани рецепторите за компонентите на комплемента; Fc рецепторите на имуноглобулините от клас G (IgG); кръстосаната реактивност на CD8+ Т клетките срещу грипните вируси; едноверижните вариабилни фрагменти на антителата; мишите модели за тестване на ДНК ваксините – трансгенни, нокаут, хуманизирани.

Литературният обзор е изключително подробен, съвременен, написан е на висок научен стил и представлява интерес за всички, които работят в областта на имунологията, вирусологията, биотехнологиите, генното инженерство и молекуларната биология.

Онагледен е с 10 цветни фигури, под всяка от които е посочен източникът, от който е взета, както и с 5 таблици.

Цели и задачите при планирането на дисертационния труд са поставени две цели – за постигането на първата са формулирани 3 задачи, а на втората – 4 задачи. Целите и задачите са ясно и точно формулирани, което говори за добра предварителна постановка на експерименталната дейност.

В Раздел Материал и методи в две части последователно са описани подробно методите и техниките, използвани при създаването и изследването на мишата и хуманизираната моделни системи. При изработването на дисертацията са използвани впечатляващ набор от съвременни методи – генетични, молекуларнобиологични, имунологични, биохимични, които напълно отговарят на поставените цели и задачи. Осъществен е прецизен статистически анализ. Разделът е илюстриран с 5 фигури, които допринасят за възприемането на експерименталната постановка.

Резултатите следват хода на поставените цели и задачи. Те са подробно описани и отлично онагледени са с 25 фигури с високо качество, които улесняват възприемането им. За пълноценното им осмисляне допринася и схематичното представяне на работната хипотеза. След успешното изпълнение на предвидените изследвания в мишата моделна система, е преминато към втората част на

експерименталната постановка – проучвания в хуманизирана моделна система. Този преход съвсем не е случаен, тъй като е известно, че ДНК ваксините осигуряват достатъчна защита след третиране на малки животни, но обикновено не са успешни в клиничните проучвания при хора. В конкретния случай обаче, проведените от Ива Иванова изследвания доказват пост-експресионния потенциал на конструираната химерна ДНК молекула да се свързва с човешки моноцити и да индуцира активиращ сигнал посредством насочено взаимодействие с прицелните рецептори, предизвиквайки силен хуморален и клетъчен отговор в NSG хуманизирани мишки. Резултатите са изведени чисто, в тях са включени необходимите контроли, убедителни са.

За никого не е тайна, че обсъждането на получените резултати в раздел „Дискусия” съвсем не е лека задача. Нейното „решаване” е своеобразен показател за „зрелостта” на автора, за нивото на подготовката му, за способността му да „впише” собствените си резултати в динамичната мозайка на съвременното познание, да ги анализира критично и безпристрастно, търсейки мястото им в пъзела от въпроси и отговори, с които съвременната научна мисъл разполага. Смятам, че Ива Иванова се е справила успешно с предизвикателството, наречено „Дискусия”, което на свой ред е блестящ атестат и за отлично свършената менторска работа на нейния научен ръководител.

Изводите Въз основа на получените резултати с мишия модел и хуманизираната система са направени две групи по 6 извода, които напълно приемам.

Съгласна съм и с обособените 3 **приноса**, посочващи новаторските елементи в дисертационния труд.

Цитираната литература обхваща общо 405 източника предимно от последните 10 години.

3. Оценка на съответствието между Автореферата и дисертационния труд

Авторефератът е изработен е в пълно съответствие с дисертационния труд и представя в съкратен вариант същността на проучването, последователността на експерименталната работа, получените резултати и направените на тяхната основа изводи и приноси.

4. Публикации и научни съобщения на докторанта по темата на дисертационния труд, награди

По темата на дисертационния труд са публикувани две статии в престижни международни списания с импакт фактор и Q1 – “Immunology Research”. В едната от тях докторантът е първи автор. Получените резултати са представени на 21 научни форума, осем от които в чужбина (Австрия, Великобритания, Франция, Холандия, Черна гора, Турция, Тайланд). За отличната си работа Ива Иванова е отличена с Първа награда в конкурса „Най-добра публикация във връзка със 150-та годишната на БАН“ през 2019 г.

5. Критични бележки и коментари, въпроси към докторанта

Не забелязах пропуски по същество. Налице са някои технически грешки, на някои места преводът от английски съдържа доста чуждици и следва буквально английския словоред; по-добре е да се използва понятието матриксен, а не матричен протеин (при описанието на структурата на грипния вирус), началото на дискусията звучи по-скоро като обзор. Би било добре в списъка с научните прояви, на които са популяризириани получените резултати да бъдат посочени също заглавията и авторите на съответните участия.

Към докторантката имам следните въпроси:

- 1) Как изглежда идеалният животински модел за изследователски цели?
- 2) Представените резултати са получени в миша (див тип и хуманизирана) система. Могат ли да бъдат сътнесени към човека и как биха „звучали“ при него?
- 3) Колко близо/далече е представената от нея ДНК противогрипна ваксина от клинично приложение? В каква посока трябва да продължи усъвършенстването ѝ?

6. Заключение

Дисертационният труд е изпълнен и написан на високо научно ниво и има своите несъмнени достойнства. В хода на подготовката, докторант Ина Иванова е

натрупала нови знания, научила се е да работи с литературни източници, усвоила е богат набор от съвременни методи и техники, включила се е в подготовката и изпълнението на мащабен проект.

Актуалната тема, амбициозният замисъл, прецизното изпълнение на поставените задачи, убедително получените резултати, безспорният приносен елемент, превръщат този дисертационен труд в значим и напълно завършен продукт, чието осъществяване би било чест за всякаrenomирана научно-изследователска лаборатория. Доказателство за това са и двете статии, публикувани вrenomирани списания (Q1) с импакт фактор.

В заключение, смятам, че представеният от Ива Иванова дисертационен труд е напълно завършен. В допълнение, Ива Иванова е покрила критериите съгласно образователната програма по кредитна система на Центъра за обучение на докторанти при БАН, с което са спазени всички изисквания на Закона за развитие на академичния състав в Република България, Правилника за неговото приложение и Правилника за условията и реда за придобиване на научни степени и за заемане на академични длъжности в Института по микробиология „Стефан Ангелов“ - БАН за присъждане на ОНС „Доктор“. Всичко това ми дава основание убедено да дам своята положителна оценка и да препоръчвам на членовете на Уважаемото Научно жури да присъдят на Ива Иванова образователната и научна степен „Доктор“ по професионално направление 4.3. „Биологични науки“ (научната специалност 01.06.23 „Имунология“).

07 октомври 2019 г.



/Проф. Р. Александрова/