

РЕЦЕНЗИЯ

за присъждане на научната и образователна степен „Доктор”

от проф. дбн Стефка Германова Танева
Институт по биофизика и биомедицинско инженерство - БАН

Автор на дисертационния труд: **Милена Любомирова Керемидарска**

Тема на дисертационния труд: „ **Роля на еластичността на субстрата в остеогенната диференциация на мезенхимни стволови клетки**”

Научен ръководител: **доц. д-р Наталия Александрова Кръстева**

Представеният дисертационен труд от Милена Любомирова Керемидарска е посветен на изключително актуалния проблем за разработването на биосъвместими композитни материали с подобрени свойства за костно-тъканното инженерство и намирането на алтернативни методи за лечението на костни заболявания.

Целта на дисертационния труд – влиянието на еластичността на нови композитни материали, близка до тази на нативната костна тъкан, върху адхезивното поведение, растежа и остеогенната диференциация на мезенхимни стволови клетки с оглед създаването на подходящи субстрати за насочена диференциация на стволовите клетки, и конкретните задачи са ясно формулирани.

В отговор на търсене на нови композити с такива характеристики са разработени материали с различна еластичност на базата на органосилокони по два различни метода (а именно (а) конвенционална полимеризация на диметилсилоксан с различна концентрация на омрежващия агент и (б) включване на детонационни нанодиамантени частици към хексаметилдисилоксан с различна концентрация при плазмена

полимеризация). Характеризирани са физико-химичните свойства (размери, модул на еластичност, топография на повърхността, воден контактен ъгъл) на получените наноматериали. Приложени са набор от биохимични методи (имунофлуоресценция, фазово/контрастна микроскопия, анализ на изображения J, определяне на адсорбцията на FITC-фибронектин измервайки интензитета на флуоресценция на протеина), изолирани са и клетъчно култивирани мезенхимни стволови клетки от костен мозък, определено е влиянието на свойствата (повърхностни и в маса) на биоматериалите върху поведението на клетките. Статистическата достоверност на резултатите е анализирана чрез ANOVA тест.

Докторантката е провела системно фундаментално изследване на цитотоксичността на нанодиамантените частици, адсорбцията на фибронектин, началната адхезия, пролиферацията и остеогенната диференциация на мезенхимни стволови клетки в присъствие и отсъствие на остеогенни фактори . Определена е еластичността и топографията на повърхността, и хидрофилността /хидрофобността на новополучените композитни материали на базата на силиконовия еластомер хексаметилдисилоксан (HMDS) и детонационен нанодиамант (DND).

Установено е, че получените композитни слоеве, получени по двата метода, се различават по топографията на повърхността и хидрофобността им, тези получени при последователно отлагане на мономера и DND частици имат по-висока грапавост и са по-хидрофилни.

Покриването на слоевете с фибронектин не влияе върху морфологията на клетките, но влияе върху техния размер и площта им на разстилане. Най-голяма адсорбция на FITC-фибронектин се наблюдава върху PDMS еластомера Sh70, който се характеризира с най-ниска грапавост.

Показано е, че при покриване на материалите с фибронектин не се наблюдава разлика в клетъчната адхезия, докато при непокрытите материали клетките се разстилат най-добре върху еластомера Sh55.

Установена е линейна корелация между модула на еластичност и количеството адсорбиран фибронектин върху PPHMDS/DND композитните слоеве. Мезенхимните стволови клетки растат по-добре върху всички изследвани композити в сравнение с покривното стъкло. От друга страна, всички композитни материали имат способността да подпомагат клетъчната пролиферация, но няма корелация между клетъчния растеж и нарастването на еластичността на материалите, и остеогенната диференциация върху всички материали е по-висока в сравнение с тази върху покривното стъкло и зависи от модула на еластичност.

Ще резюмирам накратко основните научни приноси на дисертацията.

Разработени са биоматериали с еластичност, близка до тази на нативна костна тъкан, и е изследван ефектът на тяхната еластичност върху остеогенната диференциация на мезенхимни стволови клетки. От 4-те вида получени частици за разработка на DND/PPHMDS композити са подбрани NASHCl наночастиците, тъй като те са с най-малки размери, което ефективно повишава еластичността на композитите.

Установено е, че повърхностните свойства на получените ултратънки композити зависи от метода на инкорпориране на DND частиците в PPHMDS полимера и на поведението на стволовите клетки.

В резултат на инкорпорирането на DND частици в PPHMDS полимера са постигнати по-високи стойности на модула на еластичност, а повишаването на концентрацията им води до ясно изразено нарастване на модула на еластичност на DND/PPHMDS до стойности 0.5 - 3.8 GPa, близки до тези на нативната костна тъкан, и подобряване на остеогенната диференциация на мезенхимните стволови клетки от мастна тъкан.

Разработената моделна система позволява изследването на ефекта на еластичността на субстрата върху остеогенната диференциация на МСК.

Представените резултати в дисертацията имат оригинален характер, а научните приноси безспорно допринасят за разширяването на познанията ни в областта на костно-тъканното инженерство.

На този етап приносите имат фундаментален характер, въпросът ми към докторантката е могат ли тези резултати да бъдат използвани при приложни разработки.

Дисертацията е съставена от 6 глави (увод, литературен обзор, цели и задачи, материали и методи, експериментални резултати, дискусия, изводи, научни приноси), обхваща 125 страници, илюстрирана е с 43 фигури и е перфектно оформена. Повечето цитирани работи (127) са от последните години, което показва, че докторантката много добре познава актуалното състояние на тази научна област.

Авторефератът е подготвен съгласно изискванията. Изводите и приносите правилно отразяват основните резултати на дисертационния труд.

Изследванията са отразени в 2 публикации в списания с импакт фактор, 1 глава от книга и 2 в сборници от научни форуми, в 4 от тях докторантката е първи автор, което показва личния ѝ принос в проведените изследвания. Забелязани са цитирания на една от работите.

Резултатите са представени с 6 постерни съобщения на конференции, 4 от които са международни и 2 национални. Едно от участията е получило награда.

Считам, че научните резултати са оригинални, обемът на изследването, научните приноси и наукометричните показатели отговарят напълно на изискванията на Закона за развитие на академичния състав и Правилника за приложението му в БАН, и в частност в ИБФБМИ, за придобиване на научната и образователна степен „Доктор”. Въз основа на гореизложеното препоръчвам на уважаемото Научно жури да присъди на Милена Любомирова Керемидарска научната степен Доктор.

02. 11. 2016 г.

София

/проф. дбн Стефка Танева/