

Становище

от Албена Георгиева Йорданова, доцент по биохимия в Медицински факултет на Софийски университет „Св. Климент Охридски“

върху дисертационен труд за придобиване на образователната и научна степен “доктор” в професионално направление 4.3. Биологически науки, научна специалност Биофизика

Автор на дисертационния труд: Милена Любомирова Керемидарска

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

В представения ми за рецензия дисертационен труд на Милена Любомирова Керемидарска е изследван актуален проблем, свързан с търсенето и създаването на ефективни биоматериали, които максимално да наподобяват *in vivo* клетъчната среда и да осигуряват оптимални условия за прикрепване, растеж и диференциация на клетките. Растящата честота на пациенти с различни костни увреждания (фрактури, артрози, некрози, възстановяване на тъкани след туморни операции, дегенерация на стави, и др.) е основателна мотивация за търсене и създаване на нови материали с подходящи биосъвместими, биоразградими и физико-механични свойства. Разработването на биоматериали, които осигуряват благоприятна извънклетъчна микросреда и направляват остеогенната диференциация на мезенхимни стволови клетки, е сериозно предизвикателство с потенциално приложение в модерното костно-тъканното инженерство и регенеративната медицина в световен мащаб.

Дисертационният труд е старателно оформен и дава отлична представа за извършените от докторантката изследвания. Той съдържа 125 страници, 43 фигури и 1 таблица. Цитирани са 128 литературни източника, предимно от чуждестранни автори.

В *Литературния обзор* е направен задълбочен анализ на разглеждания проблем, като подробно са разгледани: костните заболявания и използваните съвременни методи за тяхното лечение; структурата, функциите и етапите при формирането на костта; методите в тъканното инженерство за костна регенерация; ролята на мезенхимните стволови клетки в костно-тъканното инженерство; ролята на еластичността на субстрата и на механотрансдукцията за индуциране на специфичен клетъчен отговор; използваните днес биоматериали, както и приложението на органосиликони и детонационни нанодиаменти в костно-тъканното инженерство. Литературният обзор последователно въвежда читателя към изследователската цел, която Милена

Керемидарска е поставила: изследване на влиянието на еластичността на нови композитни материали, върху адхезивното поведение, растежа и остеогенната диференциация на мезенхимни стволови клетки с оглед създаването на подходящи субстрати за насочена диференциация. Поставените задачи за реализация са ясно формулирани и се явяват база за представянето и интерпретирането на получените дисертационни резултати.

Разделът *Материали и методи* включва 13 страници, в които подробно са описани: процедури за изработване на материали с различна еластичност; методи за физико-химичното им характеризиране; биологични методи за клетъчно култивиране и характеризиране на биоматериалите, както и използвания статистически анализ на получените резултати.

Получените резултати и дискусия са анализирани на 35 страници. В резултат на прецизно проведени експерименти са разработени биоматериали с еластичност, близка до еластичността на развиващата се и зрялата костна тъкан, и е изследван ефекта им върху остеогенната диференциация на мезенхимни стволови клетки (МСК). За създаването на биоматериалите с различна еластичност са използвани два различни метода: конвенционален метод на химическо омрежване и нов метод на добавяне на детонационни нанодиамантени (DND) частици към хексаметилдисилоксан, чрез плазмена полимеризация. Изследвани са 4 вида DND частици, очистени по различни протоколи, като са определени размерите, химичния състав и цитотоксичността им. Анализът на получените резултати показва, че еластичността на тестваните материали оказва влияние върху поведението на МСК и най-вече върху остеогенната им диференциация, което би било от полза за създаването на биоматериали, осигуряващи най-подходяща среда за клетъчна адхезия, растеж и диференциация.

Научните приноси от проведените изследвания са обобщени в 4 основни направления.

Резултатите от разработката на дисертационния труд, са публикувани в 5 научни статии. В 4 от тях дисертантката е първи автор, което е доказателство за личния ѝ принос при проведените изследвания и при техния анализ. Общият импакт-фактор от 4-те първи в списъка публикации е 1,737, като статията в *Advances in Planar Lipid Bilayers and Liposomes* (2015 год.) е глава на книга с ISBN, издадена от Elsevier. Забелязани са два цитата на статията в *Biotechnology & Biotechnology Equipment* (2014). Резултатите са представени на 7 научни форума у нас и в чужбина.

Представеният автореферат от Милена Керемидарска отговаря на съдържанието на дисертационния труд и дава добра информация за извършената експериментална работа и получените резултати от изследванията.

Имам следните забележки и въпроси към дисертантката, относно представения дисертационен труд:

1. Липсват статистически данни за извършените ставни трансплантации през последните няколко години и не са посочени източниците на статистическата информация за честотата на разпространение на остепороза и остеоартрит (стр. 10-11).
2. На стр. 46 в Литературния обзор е обяснено, че *„хидрофилизацията е основен подход за подобряване на клетъчното взаимодействие, тъй като повечето видове клетки предпочитат хидрофилните повърхности [van Wachem et al., 1985]“*. На следващата страница е посочено, че органосиликоните, като използван биоматериал, имат уникални характеристики, включващи *„висока хидрофобност и разтворимост в неполярни разтворители“*. Как ще коментирате това противоречие?
3. Защо в състава на стандартната среда за култивиране на стволовите клетки са добавяни неесенциални аминокиселини (стр. 58)?
4. В таблица 1 е показан химичния състав на примесите в изследваните нанодиамантени частици. Каква е размерността на отделните примеси?
5. На Фигури 21 и 32 липсват баровете, указващи размерността на клетките на снимките.
6. На Фиг. 22 не е ясно за каква площ се отнася изчисленият брой прикрепени мезенхимни стволови клетки върху изследваните композитни материали.

От извършената научно-изследователска работа мога да обобщя, че Милена Керемидарска е напълно подготвен млад учен за провеждане на задълбочени научни изследвания, притежаващ необходимите експериментални умения и способности да обсъжда резултатите и да ги съпоставя с литературни източници. С представените публикации и участия в научни форуми тя напълно отговаря на изискванията в Правилника за реда и условията за придобиване на научни степени в ИБФБМИ, БАН, както и на Правилника за прилагане на Закона за развитието на академичния състав на Република България.

Всичко това ми дава основание убедено да препоръчам на дисертантката Милена Любомирова Керемидарска да бъде дадена образователната и научна степен “доктор”.

София

Автор на становището:

30.09.2016 год.

(доц. д-р Албена Йорданова)