

СТАНОВИЩЕ

от доцент Милена Сергеева Мурджева-Андонова, Секция Молекулярна имунология, Институт по биология и имунология на размножаването, БАН

Относно: Дисертационен труд за защита и придобиване на образователната и научна степен „Доктор”, по Професионално направление: 4.3. „Биологични науки”, По научна специалност: Морфология (шифър: 01.06.26)

Тема на дисертационния труд: „ПРОУЧВАНИЯ IN VITRO ВЪРХУ ЦИТОСЪВМЕСТИМОСТТА И ОСТЕОИНДУКТИВНОСТТА НА НОВИ МАТЕРИАЛИ ЗА КОСТНИ ЗАМЕСТИТЕЛИ ”

Автор на дисертационния труд: Бойка Димитрова Андонова-Лилова, Институт по експериментална морфология, патология и антропология с музей, БАН

Научен ръководител: проф. Радостина Ивайлова Александрова, доктор

Терапията на костно-ставни патологии често изисква употреба на импланти от различни материали. Изследванията на цитосъвместимостта / биосъвместимостта на новосинтезирани материали, кандидати за костни заместители, е сериозно предизвикателство преди въвеждането им в употреба. Тези изследвания са комплексни и включват избор на моделна система и начин на въздействие, избор на време на въздействие, както и на методи за отчитане на резултатите. В настоящата дисертация са изследвани 21 новосинтезирани материали за костни заместители, систематизирани в три различни групи върху клетъчни култури с различен произход – човешки, миши, плъши, говежди; туморни (карциноми на гърда и маточна шийка, остеосарком) и нетуморни (ембрионални, хематопоеични, фибробласти, мезенхимни стромални клетки от адипозна тъкан), първични култури и клетъчни линии. Системата допълнително е усложнена от избора на пряко или индиректно въздействие; вариране на времето на въздействие; броя клетки в експеримент; методите за отчитане, като са използвани алтернативни методи.

Литературният обзор е изключително богато илюстриран и обхваща информация за костно-ставни патологии, налагащи употребата на импланти; вид, състав и структура на костите; костно ремоделиране; ставни заболявания и костни малформации; материали за костно заместване; използването на мезенхимни стволови клетки за костно ремоделиране; 3Д материали и биопринтиране на скафолди; използване на животински модели. Информацията е изключително изчерпателна, но на моменти е леко нефокусирана спрямо темата на изследванията.

Поставената в дисертацията **цел** е проучвания върху цитосъвместимостта и остеоиндуктивната способност in vitro на 21 новосинтезирани калциево-фосфатни

(КФМ) материали за костни заместители, модифицирани с метали [Mg(II) и/или Zn(II), Sr(II)].

Приложени са изключителни широк диапазон от **методи** – получаване на първични клетъчни култури от костен мозък на плъх и мишка и от човешки мезенхимни стволови клетки; култивиране на туморни и нетуморни клетъчни линии; култивиране на клетките при различни условия на пряко и индиректно въздействие на материалите; отчитане на клетъчната виталност чрез различни методи; отчитане на генотоксичността чрез кометен тест; микроскопии; диференциация и пр. Забележката ми към методичния подход е леко хаотичния стил – към без друго усложнената система на изследване се добавят на моменти излишни според мен вариации – напр. отчитането на различно количество културална среда за алкално фосфатазна активност, които впрочем дават нееднозначни резултати, което е подминато без обяснение.

Резултатите са представени в 102 фигури. На моменти коментарът е оскъден. Изборът да се представи такова огромно количество експериментални данни изисква много прецизно водене на читателя през материята, целите и задачите на експериментите, а на моменти се чувствам напълно изгубена. Може би представянето на резултатите по материали или по клетъчни линии би било по-лесно за ориентиране, но това разбира се е избор на авторите и въпрос на творчески подход.

Дискусията е леко нетрадиционна и представя внимателно систематизиране и обобщаване на резултатите в по-голяма степен, отколкото поставянето им в контекста на познатата литература по въпроса. Подозирам, че това е наложено от оригиналността на резултатите и трудността изследванията да бъдат сравнени с подобни за други материали, а и това било до известна степен безсмислено. Напълно приемам **изводите** и **приносите** на авторите.

Към представените в дисертацията резултати имам следните **коментари**:

- На фиг. 43 и 44 липсва статистика, въпреки, че е споменато че изследванията са повторени в 3, съответно 5 експеримента
- На фиг. 105 липсват буквените означения
- Добре би било да се коментират времената за удвояване на популацията за всяка от използваните линии или първични култури клетки, за да се оцени смисълът на резултатите за пролиферация (при данни за скок от 36% виталност на трети ден до 157,89% на шести ден, липсата на такава информация ме затруднява да оценя ефекта)
- Според данните на фиг. 108 не наблюдавате АО, а имате ли подходяща контрола за оцветяването? На фиг. 109 не се ли виждат единични позитивни клетки за АО? Увеличенията на лявата и дясната колона микрофотографии едва ли е еднакво; според мен са сбъркани и увеличенията, указани на фиг. 112, 115, 116, 117, 121, 122.

Въпроси:

- Как обяснявате показаните в повечето случаи разлики между трите цитотоксични теста?
- От данните представени на фиг. 59 по какво съдите, че преживяемостта нараства?
- Има ли литературни данни за използване на първични клетъчни култури на такъв висок пасаж (до 60ти)?
- Каква е контролата при директните тестове?

Бойка Лилова е представила всички необходими по процедурата документи на хартиен и електронен носител в съответствие с Правилника за условията и реда за придобиване на научни степени и заемане на академични длъжности в БАН и е представила за дискусия резултатите си и проекта си за дисертация на семинар в ИМПАМ-БАН в края на миналата година, от който останах с чудесни впечатления. Резултатите от дисертацията са включени в една публикации с импакт фактор и седем в международни списания и сборници от конгреси в пълен текст. Резултатите са докладвани в множество конгресни представяния. Изследванията по дисертацията са подкрепени частично от седем финансирани проекта. Натрупаният експериментален и проектен опит дава основание да смятам, че Бойка е подготвен за самостоятелна работа учен, получил всички възможности за усвояване на необходимите компетенции и експертиза.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Дисертацията по съдържание и актуалност отговаря на изискванията на Закона за развитие на Академичния състав в РБ и вътрешните правилници на БАН и ИМПАМ. Убедено гласувам ЗА присъждане на образователната и научна степен доктор на Бойка Димитрова Андонова-Лилова.

Март 2021, София


Милена Мурджева