

## СТАНОВИЩЕ

от чл. кор. проф. Румен Панков дбн, катедра „Цитология, хистология и ембриология“, Биологически факултет, Софийски университет „Св. Климент Охридски“, научен ръководител на докторанта

Член на научно жури, съгласно заповед № РД38-378/08.06.2016 на Ректора на Софийски университет „Св. Климент Охридски“ за получаване на образователната и научна степен “доктор”, професионално направление 4.3. Биологически науки, научна специалност „Клетъчна биология”

Относно дисертационния труд на Борислав Емилов Арабаджиев на тема „Изолиране и характеризиране на линии от човешки ембрионални стволови клетки”

След създаването на първите линии от човешки ембрионални стволови клетки (чЕСК) от Джеймс Томсон през 1998 година, интересът към този уникален клетъчен тип нарасна неимоверно и даде мощен тласък на развитието на едно от най-съвременните направления в биологията – биологията на стволовите клетки. Широките възможности, предоставяни от тези клетки за развитието на регенеративната медицина, предопредели и стремежа на множество лаборатории по света да изолират нови линии от чЕСК, да проучват техните качества, да оптимизират протоколите за отглеждането им *in vitro* и да изследват способностите им за диференциация. Представеният от Борислав Арабаджиев дисертационен труд може да бъде определен като част от тези актуални изследвания и всъщност е първият документиран успешен опит за създаване и охарактеризиране на български линии от чЕСК.

Дисертационният труд, съдържащ 113 страници, е организиран по утвърдената от ЗРАСРБ и Правилника за приложението му схема, като е запазен добър баланс между отделните раздели. Библиографията се състои от 229 актуални източника, всичките на латиница.

Литературният обзор е добре фокусиран и включва седем раздела, като основната тежест логично е поставена върху плурипотентните стволови клетки. След бърз преглед на ранното ембрионално развитие и формирането на герминативната линия са разгледани основните молекулни механизми, поддържащи плурипотентността при мишите и човешките ембрионални стволови клетки. Представена е информация и за основните молекулни маркери на чЕСК, които в последствие са използвани при разработването на дисертацията. Разгледани са основните подходи за изолиране и манипулиране на чЕСК, като е направен преглед и

на прилаганите стратегии за получаване на диференцирани клетъчни типове от недиференцираните стволови клетки. Многобройните публикувани в литературата протоколи са добре обобщени, като са изведени основните фактори, играещи ключова роля за съответния тип диференциация. Информацията е представена професионално, като е онагледена с 11 подходящи схеми. Обзорът завършва с главата „Необходимо ли е създаването на нови линии от чЕСКС?“, която очертава най-важните проблеми, свързани с качеството и репрезентативността на вече създадените линии и убедително очертава необходимостта от създаването на нови такива. Тази глава е много добър преход и обосновка на поставените в дисертацията цел и задачи.

Целта на дисертацията – да се създадат български линии от човешки ембрионални стволови клетки и да се проучат възможностите им за диференциране е ясно формулирана, а определените за постигането ѝ седем конкретни задачи добре очертават периметъра на предвижданите експерименти.

Разделът „Материали и методи“ включва описание на широк набор клетъчно- и молекулярно-биологични експериментални постановки. Описанието е достатъчно подробно, което отговаря на основното изискване на този раздел – да създава възможност за повторение на проведените експерименти от други изследователи.

Получените резултати са докладвани и обсъдени на 46 страници в раздели, които следват формулираните задачи. От получени чрез информирано съгласие 24 ембриона с различно качество, намиращи се в различни стадии на развитие и чрез прилагане на различни техники за освобождаване на вътрешната клетъчна маса, са получени три линии от човешки ембрионални стволови клетки – VAM1, VABE1 и VABE2. Чрез използване на имуофлуоресценция, имуоблотинг, PCR, проточна цитометрия, формиране на ембрионни тела и хистохимични изследвания е показан стоволовоклетъчният характер на изолираните линии, като най-стабилната линия VABE1 е охарактеризирана най-пълно и е подбрана за последващите експерименти по спонтанна и насочена диференциация. Проведеното охарактеризиране не оставя съмнение за успешното изпълнение на първата част от поставената цел, а именно усвояване и успешно прилагане на технологията за изолиране и криосъхранение на линии от чЕСК.

Втората част от този раздел представя резултати демонстриращи способността на линията VABE1 да се диференцира до представители на невроектодермата, мезодермата и до примордиални герминативни клетки, добавяйки допълнителни функционални доказателства за плурипотентността на установената линия. От тези

резултати, като особено интересни бих искал да подчертая модифицирания от Арабаджиев метод за получаване на кардиомиоцити чрез използване на НТВ-9 кондиционирана среда и особено, оригиналния метод за диференциация до примордиални герминативни клетки със запазена пролиферативна активност. Разделът е илюстриран с 45 добре изработени, комплексни фигури повечето от които са микрофотографии с високо качество. Получените резултати затвърждават впечатлението за креативност и отлична професионална подготовка на докторанта.

От получените резултати са формулирани 5 извода и 3 приноса, с които съм напълно съгласен.

Авторефератът правилно отразява основните резултати на дисертационния труд, като изработването му, както и това на дисертацията са изпълнени много добре.

Част от резултатите от дисертационния труд са публикувани в пет статии и са докладвани на 3 научни форума. Отбелязани са и 16 цитата. Тези наукометрични данни превъзхождат утвърдените в Биологически факултет на СУ „Св. Климент Охридски” изисквания за такъв научен труд.

**ЗАКЛЮЧЕНИЕ:** Дисертационният труд, представен от Борислав Арабаджиев представлява едно професионално изпълнено и компетентно представено научно изследване, което напълно отговаря на изискванията за придобиване на образователна и научна степен „доктор”. Като научен ръководител имам непосредствени наблюдения върху подготовката, стила на работа и качествата на докторанта. Борислав е обещаващ млад изследовател, който притежава знания и умения самостоятелно да формулира, разработва и успешно да решава научни проблеми в областта на биологията на стволовите клетки. Това ми дава основание да дам напълно убедено своета положителна оценка и да препоръчам на уважаемите членове на Научното жури, да присъдят на Борислав Емилов Арабаджиев образователната и научна степен ”Доктор” по научната специалност „Клетъчна биология”.

28.06.2016 г.

/чл. кор. проф. Румен Панков, дбн/