

СТАНОВИЩЕ

От доцент Росица Конакчиева, д.б.н., ИБИР „Акад. К. Братанов“ – БАН

Относно: Дисертационен труд на тема: „Сигнализация при клетки, отглеждани в условия на триизмерен матрикс“ за присъждане на научната и образователна степен „Доктор“ на асистент Ралица Бориславова Скробанска

Представеният ми за становище дисертационен труд на тема: „Сигнализация при клетки, отглеждани в условия на триизмерен матрикс“ по обем, цел и задачи, материал и методи, резултати и обсъждане, изводи и литературен обзор, отговаря на съвременните изисквания и критерии за такъв вид научна продукция. Трудът е написан общо върху 134 страници, уводът мотивира категорично темата на дисертацията, литературният обзор засяга детайлно най-новите постижения, предизвикателства и проблеми за разрешаване в една изключително актуална и силно конкурентна област на модерните клетъчни биотехнологии. Поставен е акцент върху фундаментални изследвания в областта на механизмите на сигнализация контролиращи пролиферацията в конвенционални и различен тип триизмерни системи на култивиране. Проследено е развитието на това направление в световен мащаб и са открити най-новите достижения, като за тази цел са анализирани и цитирани предимно източници от последните 10 години.

Целта на дисертацията е формулирана кратко и ясно – да бъдат анализирани сигналните пътища, протичащи в триизмерни условия наподобяващи тези *in vivo*, които имат отношение в контрола на клетъчната пролиферация. Поради пионерния характер на разработката основна цел при проучването на тези пътища е провеждането на сравнителни изследвания на различни моделни системи за клетъчно култивиране с оглед характеризирането на система, най-близка до условията на здрава тъкан.

Въз основа на целта са формулирани четири задачи, които поставят необходимостта от използване на съвременни и информативни, но същевременно и много трудоемки, и изискващи голяма прецизност и координиране на експериментални постановки методи, а именно: култивиране в конвенционални двуизмерни, и различен тип триизмерни условия на голям брой клетки от клетъчни линии и изолирани от нативна тъкан; кинетичен анализ на експресионния профил на широк набор компоненти на сигнални реакции чрез имунохимични, имуноцитохимични, морфологични и биохимични методи, фосфолипиден фракционен анализ на клетъчни мембрани; флуориметричен и имунофлуоресцентен анализ; конфокална и светлинна микроскопия; биологични анализи по определяне локализирането на специфично белязани дялящи се клетки и др. Резултатите са обработени математически за количествена оценка където това е било необходимо, като е използван специализиран софтуер за работа с програмни продукти.

Най-съществената част от дисертационния труд е разделът „Резултати и дискусия“, като прави приятно впечатление включването на подраздел „Заклучение“ и обособяването на раздел ‘Обобщение на резултатите’. Резултатите са представени на 59 страници, като следват подробно, на места излишно повтарящо се представяне на логиката на експериментите и обосновка на задачите. Общо в добър научен стил, получената информация от конкретните експерименти е анализирана в детайли след всеки подраздел и дискутирана в контекста на приведената научна литература – сравнително голяма по обем – общо 223 източника. Поради естеството и оригиналността на темата не изненадва липсата на български автори в цитатите, тъй

като представеният труд е пръв по рода си в България като третира чисто фундаментални аспекти на клетъчната сигнализация в триизмерни моделни системи с цел приложение в най-модерни биотехнологии в областта на регенеративната медицина. Експериментите следват логически в съответствие с поставените задачи и разкриват много задълбочен и последователен подход на научно експериментиране, пререквизит за постигането на категорични и информативни резултати с определени приноси. Получените резултати са илюстрирани в 42 фигури представляващи в по-голямата си част комбинация от графични изображения на количествени резултати или микроскопски снимки с данните от паралелно проведено изследване на експресията на фосфорилирани/нефосфорилирани сигнални белтъчни молекули – интегрини, кинази, циклини, онкопротеини и др. Този начин на представяне на получените резултати е изключително информативен, като прави много добро впечатление включеното навсякъде контролно изследване за маркерни белтъци като актин и тубулин.

В края на дисертацията са формулирани общо 4 извода, като три от тях имат приносен характер (2, 3 и 4). Въпреки че в дисертацията е отделена значителна по обем работа по проучване ефектите на ловастатин в триизмерни моделни системи, в изводите не са включени определени заключения, следващи от дисертационния труд. Вероятно авторите са се ограничили с резултати, категорични по отношение сигнализацията в използваните модели. Като се има предвид обаче липсата на информация при приложението за тези холестеролови инхибитори с медицинско приложение в триизмерни системи и ин-виво, получените данни за характерно поведение на клетъчни компоненти като циклин D1 и фосфорилираната ERK1/2 в този нов тип система за клетъчно култивиране представляват определен принос и основание за задълбочаване на тези изследвания и съответна формулировка би могла да намери място в приведените „Изводи“.

Основните приноси от дисертацията са свързани с разработването на нов „нативен“ тип клетъчна култура, наричана от автора „3D клетъчен матрикс“ включваща миши фибробласти от линия GD 25β1 отглеждани в собствено синтезиран извънклетъчен матрикс. Установеното равномерно разпределение на клетките, растежни характеристики и последователно навлизане в клетъчен цикъл, характеризират системата като добър ин-витро аналог на „здрава тъкан“, подходяща за бъдещи фундаментални изследвания. В това отношение опитът с този модел отразен в изводи 3 и 4, може да бъде успешно използван за проучване поведението на човешки клетки с цел създаване на прототипи за биотехнологични нужди.

Заключение: Въз основа на добре подобрите и прецизно използвани методи и получените научно-приложни резултати, съдържащи се в дисертацията, както и задълбочено проведеното им обсъждане считам, че представеният дисертационен труд на тема „ **Сигнализация при клетки, отглеждани в условия на триизмерен матрикс**“ напълно отговаря на изискванията на Закона за развитие на академичния състав в Република България и на Правилника за неговото приложение. Докторантката е придобила значителен научен и изследователски опит и е овладяла ценни и съвременни методи за работа по научната специалност „Клетъчна биология“- шифър 01.06.18. Съгласно общата ми оценка, пренебрегвайки несъществени несъвършенства от техническо естество, за които съм уведомила дисертантката, **Ралица Бориславова Скробанска** безусловно заслужава присъждането на **образователната и научна степен „Доктор“**.

04.08.2011 г.

Доцент Росица Конакчиева, дбн