

## СТАНОВИЩЕ

от чл. кор. проф. Румен Панков дбн, катедра „Цитология, хистология и ембриология”,  
Биологически факултет, Софийски университет „Св. Климент Охридски”

Относно дисертационния труд на Светлана Иванова Иванова на тема „Клетъчен биосензор за оценка на повърхностна биосъвместимост“, представен за получаване на образователната и научна степен „Доктор“

Дисертационният труд на Светлана Иванова е свързан с една съвременна и много бързо развиваща се област от съвременната репаративна медицина, обхващаща създаването на нови материали, подходящи за влагане в човешкото тяло като импланти. Независимо от напредъка в разработването на такива биоматериали, приложимостта им може да бъде определена само след оценка на тяхната биосъвместимост. Най-често, с помощта на разнообразни клетъчно и молекулярно биологични методи се преценява способността на изкуствените материали да осигурят на клетките подходяща адхезивност, да обезпечат тяхната пролиферация и да способстват отлагането на собствен извънклетъчен матрикс - качества, които са задължителни за успешното вграждане на импланта в живия организъм. Тези комплексни изследвания обаче изискват време и често резултатите получени в различните лаборатории трудно могат да бъдат сравнявани поради различия в методичните постановки. Съществуващите проблеми могат да бъдат преодоляни, ако се разработи унифицирана система за оценка на биосъвместимостта, базирана на живи клетки изпълняващи ролята на биосензор. Представената дисертация е посветена на създаване на такъв биосензор, което я определя като актуална, както от фундаментална, така и от практическа гледна точка.

Структурирането на дисертационният труд, е съгласно утвърдената от ЗРАСРБ и Правилника за приложението му схема. Написан е на 132 страници, разделени в седем основни раздела, като е запазен подходящ баланс между тях. Библиографията се състои от 238 източника, всички на латиница. **Литературният обзор** включва три основни раздела, които в стегнат вид представят наличната в литературата информация, касаеща проведеното изследване. Съществено място е отделено на взаимодействието на клетката с околната среда - разгледани са видовете адхезивни контакти; направен е преглед на белтъците, участващи в тези контакти, като са представени по-подробно белтъците винкулин, паксилон и тенсин, които са използвани при разработването на дисертационния труд; представени са в обобщен вид и основните характеристики на

белтъците, изграждащи извънклетъчния матрикс. Останалите две глави от обзора – „Тъканно инженерство и регенеративна медицина“ и „Биосензори на основата на живи клетки“ разглеждат синтезирано видовете биоматериали, използвани в регенеративната медицина и разработените до момента основни видове биосензори. Трябва да се отбележи, че голямото количество информация е добре систематизирано и обобщено. От представянето на обзора е видно, че докторанта се е запознал много добре с наличната литература, може да си служи компетентно с нея и да я представи на ясен и добър български език. **Целта** на дисертацията е да се потвърди хипотезата, че клетъчните адхезивни контакти и морфологията на клетките могат да се използват като критерии за оценка на повърхностна биосъвместимост. За експериментална проверка на тази хипотеза, целта включва и създаване на жив клетъчен биосензор чрез който да се проведат стандартизирани изследвания. За постигане на тази цел са конкретизирани 6 задачи, които добре очертават периметъра на предвижданите изследвания. Разделът **Материали и методи** включва широк набор от експериментални постановки от областта на клетъчната и молекулярната биология, вариращ от широкоразпространените конфокална микроскопия, PCR и Western blotting до специализираните морфометрични анализи с Image J, работа с PDMS и др. Разделът добре илюстрира широкият набор от методи, овладян от докторанта. **Резултатите и дискусията** са представени като общ раздел, онагледени са с 23 фигури и 3 таблици, които много добре отразяват получените данни и не оставят съмнение за коректността на експериментите проведени с необходимите повторения и статистическа обработка. Без да бъде изчерпателен по отношение на всички получени резултати бих искал да отбележа основните постижения на дисертацията. Предложен е нов систематичен подход за оценка на биосъвместимостта на биоматериалите, включващ жив клетъчен биосензор (генетично манипулирана NIH/3T3 клетъчна линия, стабилно експресираща флуоресцентно белязани белтъци от клетъчните адхезивни контакти - mCherry-Vinculin и GFP-Tensin), набор от измеряеми параметри, характеризиращи клетъчната адхезия (спредирание, поляризация, площ на фокалните адхезии, площ на фибриларните адхезии) и карта на адхезивния потенциал, състояща се от средните стойности на тези параметри, измерени върху пет естествени клетъчни субстрата (фибронектин, витронектин, ламинин 111, ламинин 521 и колаген 1). Използването на стабилна клетъчна линия (биосензор) и дефинирани и измеряеми параметри гарантира сравнимостта между различните анализи и позволява идентифициране на параметрите, които се нуждаят от допълнително подобряване. Дискусията е направена убедително и

ясно, като коректно са представени и съществуващите съвременни данни, публикувани от други автори. Тя затвърждава впечатлението за отличната професионална подготовка на докторанта. От получените резултати са формулирани 5 извода и 2 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.

По-голямата част от резултатите от дисертационния труд са публикувани в две статии с импакт фактор (общ ИФ 4,4) и са докладвани на два научни форума. Въпреки скорошното публикуване на статиите вече е забелязан и един цитат. Тези наукометрични данни напълно удовлетворяват и законовите изискванията за такъв научен труд.

Като научен ръководител на докторанта искам да отбележа още, че Светлана Иванова успя за изключително кратко време да навлезе и да усвои сложните аспекти на изучаване на клетъчното поведение. Тя прояви инелигентност, упоритост, самостоятелност и прецизност при изпълнение на всички експериментални задачи.

#### ЗАКЛЮЧЕНИЕ:

Дисертационният труд, представен от Светлана Иванова представлява едно актуално, добре изпълнено и професионално представено научно изследване, което напълно отговаря на изискванията за придобиване на образователна и научна степен „доктор” Той характеризира своя автор като изграден млад изследовател, който притежава знания и умения самостоятелно да разработва и успешно да решава научни проблеми в областта на клетъчната и молекулярната биология. Това ми дава основание да дам напълно убедено своета положителна оценка и да препоръчам на уважаемите членове на Научното жури, да присъдят на Светлана Иванова образователната и научна степен ”Доктор” по научната специалност „Клетъчна биология”.

20.12.2017 г.

Изготвил становището:

/чл. кор. проф. Румен Панков, дбн/