

РЕЦЕНЗИЯ

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

на дисертационен труд на тема:

„Модулиране взаимодействие на клетки с полимерни повърхности и мембрани”

Докторант: Анелия Стефанова Костадинова

за получаването на образователната и научна степен „Доктор”

Научен ръководител: проф. д-р Георги Алтънков, дбн

Научен консултант: проф. Яна Цонева, д.б.н.

1. Съвременно състояние на научния проблем и актуалност на дисертационната тема

В съвременните схващания за създаване на успешни импланти приложими в репаративната медицина все повече се налага мнението, че биомиметичните материали предлагат много по-добри възможности от сега използваните простетични импланти. Абсолютизираното доскоро качество на протезите да са биологично инертни (биологично „невидими”), вече отстъпва пред идеята за създаване на изкуствени материали, които максимално наподобяват тъканта, в която се вграждат и активно взаимодействат с нейните клетки. Подобни изисквания се предявяват и към носителите, използвани в различни биотехнологични производства. Това означава, че материалите предназначени за изработване на биомиметични импланти и клетъчни носители трябва да имат подходящи физични и химични свойства. Те трябва да предоставят на клетките, които ще ги заселят, всички основни сигнали, които направляват клетъчната физиология и метаболизъм, т.е. те трябва да бъдат биосъвместими. Симулирането на свойствата на нормалния извънклетъчен матрикс в повърхността на новите материали е бързо развиващо се направление от областта на съвременните наноматериали и тъканно инженерство. Представеният ми за рецензиране дисертационен труд напълно съответства на това актуално научно направление.

2. Оценка на структурата, задачите и тяхното съответствие с поставения научен проблем

Дисертационният труд е структуриран по общоприетия начин и включва частите „Литературен отбор” (40 стр.); „Цел и задачи” и „Материали и методи” (15 стр.); „Резултати” (27 стр.), „Дискусия” (12 стр.). От извършената експериментална работа са направени 3 основни извода, а за разработването на труда са използвани и цитирани 169 литературни източника, три от които са на кирилица, а останалите – на латиница.

Основната цел на труда – да се изследват възможностите за подобряване на биосъвместимостта на полимерни повърхности чрез вграждане на елементи от екстрацелуларния матрикс е конкретизирана в четири общи задачи, свързани с проучване на избраните за изследване полимери – полиетиленгликол (ПЕГ), силиконов каучук, полидиметилсилоксан (ПДМС) и полимерни мембрани, формирани от различни количества полиакрилонитрил (ПАН)/ акрилонитрил и 2-акриламидо-2-метил пропан сулфонова киселина (АН АМПС). Съвсем логично и обосновано за оценка на промените в биосъвместимостта е планирано изследване на клетъчната реакция спрямо всеки от проучваните субстрати. В конкретното изследване е използвана естествената способност на клетките да получават, процесират и реагират на различните повърхности чрез адхезия, спредиране, формиране на адхезивни контакти и ремоделиране на адсорбираните белтъци от извънклетъчния матрикс. Регистрирането и/или околичествяването на тези клетъчни реакции, съвсем резонно е използвано за оценка на биосъвместимостта.

3. Оценка на съответствието на методичните подходи с поставените цели

В дисертацията са използвани широк набор от методи, съобразени с конкретните изисквания на експерименталните задачи. Те включват изработване, както и физикохимичен анализ на полимерни повърхности, култивиране на различни видове клетки, морфологични методи, базирани на флуоресценция и функционални изследвания за определяне на клетъчна пролиферация и синтез на различни белтъци. Методите са описани подробно, като прави много добро впечатление и факта, че са представени не само като лабораторни процедури, а към повечето от тях са дадени и обяснения за същността им.

Общо, подобреният комплексен методичен подход създава добра възможност за задълбочено проучване и е гаранция за успешното разрешаване на поставените научните задачи.

4. Оценка на съответствието на теоретичната обосновка с експерименталните решения, резултатите и изводите

Литературен обзор

Представеният литературен обзор може условно да бъде разделен на две части. В първата част са разгледани основните белтъци, образуващи екстрацелуларния матрикс, структурирането му, както и контактите, които клетките образуват с него и помежду си. Въпреки, че изложението е стегнато и вероятно докторантката е искала да представи познанията в тази област в тяхната пълнота, намирам, че описанието на някои компоненти на извънклетъчния матрикс (напр. хиалуронан, протеогликани, ламинин и др.) е излишно, тъй като не са обект на разработваната проблематика. Втората част е посветена на полимерните биоматериали, като е представена подходяща информация за използваните в дисертацията полимери. Прави добро впечатление фактът, че за всеки от материалите са дискутирани съществуващите недостатъци и възможните начини за тяхното подобряване – въпроси, които са третираны в дисертацията и които дават добра обосновка на последващите изследвания.

Към литературния обзор имам и една препоръка – намирам за подходящо, особено в първата част, включването и на по-нови и специализирани литературни източници.

Резултати, дискусия и изводи

Получените резултати могат да бъдат обобщени в три групи, базирани на вида на изследваните биополимери.

а) ПЕГ модифицирани повърхности.

Установено е, че независимо от своята висока хидрофилност, полиетилен гликол-покрити повърхности проявяват различна биосъвместимост, зависеща от структурата и дължината на оксиетиленовата верига. Най-подходящи условия за адхезиране, спредирание и нормално структуриране на интегриновите рецептори и актиновия цитоскелет са намерени при повърхности покрити с ПЕГ 6000, следвани от ПЕГ 12500 с разклонени вериги, а най-неподходящи се оказват повърхности покрити с ПЕГ 1500. Преадсорбцията с фибронектин подобрява адхезията на фибробластите, като в този случай е установено, че значение има не количеството на адсорбирания белтък, а най-вероятно конформацията му, която зависи от вида на използвания ПЕГ.

б) Модифицирани ПДМС повърхности.

Установено е, че биосъвместимостта на хидрофобни повърхности от силиконов каучук (полидиметилсилоксан) могат да бъдат подобри чрез хидрофилизиране

посредством модификация с аргонска плазма, което подобрява значително клетъчната адхезия и клетъчния растеж. Биофункционализирането на ПДМС чрез присаждане на гъвкава връзка от диNH₂-ПЕГ с различна дължина и имобилизиране на колаген, осигуряват подобрени възможности за залавяне и растеж на човешки фибробласти. Най-добро взаимодействие с клетките е отчетено при използване на диNH₂-ПЕГ 6000, което най-вероятно се дължи на предоставяне на най-оптимален достъп на колагеновите молекули до клетките.

в) Синтетични мембрани

Установено е, че варирането на количеството на ПАН (P) и АН АМПС (A) в състава на ко-полимера, от който са изработени изкуствени мембрани за целите на ин-витро отглеждане на хепатоцити, може да модулира взаимодействието с клетките. Експериментално е показано, че мембрана със състав P/A-50/50 стимулира прикрепването, растежа и функционалната активност на човешката хепатобластомна клетъчна линия С3А и е най-подходяща за опитите по създаване на изкуствен черен дроб.

От проведените експерименти са направени три комплексни извода, които са подкрепени от експерименталните данни и с които съм напълно съгласен.

5. Техническо оформление и въпроси

Технически дисертацията е оформена прегледно, написана е на добър и приятен за четене български език и е онагледена с подходящ илюстративен материал. Както във всеки подобен труд има и някои технически пропуски като например означаването на оцветяването с FITC- фалоидин, като имунофлуоресценция (стр. 64) или липсата на означения за типа на показаните оцветявания на Фиг. 16 и Фиг. 17. Тези дребни пропуски обаче не променят доброто общо впечатление от представения дисертационен труд.

Авторефератът правилно отразява основните резултати на дисертационния труд.

Към докторантката имам следния въпрос:

Може ли да обясни защо при изследването на синтетичните мембрани не са намерени P/A комбинации които да стимулират едновременно и най-силна пролиферация и най-силна функционална активност, а най-високите показатели за тези параметри са намерени в различни мембрани - P/A-100/0 и P/A-50/50 съответно.

6. Наукометрични показатели

Резултатите от дисертацията са публикувани в пет научни статии и са представени на 8 научни конференции и семинари у нас и в чужбина. Четири от статиите са в списания с импакт фактор и една в българско издание, като общият импакт фактор е 5.4. Забелязаните цитати са 12. Тези наукометрични данни напълно покриват и дори надхвърлят изискванията ИБФБМИ за придобиване на научната и образователна степен „Доктор”

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Основните постижения в дисертацията на г-ца Костадинова са оригинални и имат приносен характер в познанията свързани с разработването на модифицирани полимерни повърхности, подходящи за клетъчно култивиране или евентуално изпозване в тъканното инженерство и биотехнологиите. Представеният труд характеризира своята авторка като компетентен изследовател, който има знанията, уменията и компетентностите да решава самостоятелно научни проблеми.

Имайки предвид стойността, актуалността и международния отзвук на научните резултати давам своята положителна оценка и препоръчвам на уважаемите членове на Научното жури, назначено със заповед № 422 от 03.10.2011. да присъди на г-ца Анелия Стефанова Костадинова образователната и научна степен ”Доктор”.

26.11.2011 г.

София

Рецензент:

(проф дбн Румен Панков)