

РЕЦЕНЗИЯ

на дисертационен труд за получаване на образователна и научна степен

"доктор"

Автор на дисертацията: Камелия Тодорова Христов, редовен докторант към
Институт по биофизика и биомедицинско инженерство – БАН

**Тема: " Модулирано взаимодействие на остеобласти с хидроксиапатитни
материали"**

Рецензент: Проф. дбн Здравко Иванов Лалчев, Биологически факултет на СУ
"Св. Кл. Охридски"

В дисертационната работа на Камелия Христова са изследвани *in vitro* взаимодействията на остеобласти с хидроксиапатитни материали. В по-общ план тематиката попада в областта на изследвания върху взаимодействията на клетки с биоматериални повърхности, на биологичното им охарактеризиране и оценка за съвместимостта им, с оглед създаване на заместители на костната тъкан за нуждите на хирургията и медицината. Функционално остеобластите са клетки в костната тъкан, които отлагат екстрацелуларния матрикс и регулират неговото минерализиране. Хидроксиапатитният (ХА) цимент е един сравнително нов тип материал, предназначен за възстановяване на костната тъкан, поради което трудът е насочен главно върху биологичното охарактеризиране на ХА цимент, както и върху възможностите за подобряване на неговата биологична съвместимост чрез физическа адсорбция или добавяне към циментовата смес на белтъци от екстрацелуларния матрикс.

Основните задачи в труда са да се създадат колаген-циментови композити и да се модифицира повърхността на композитните цименти, да се охарактеризират биологично (обемно и повърхностно) модифицираните цименти, да се изследва влиянието на включването на нанодиаменти в хидроксиапатитни покрития и др.

Безспорно е, че поставените цели и задачи в дисертационния труд са изключително актуални за клетъчната биология, а също така и за медицината. Достатъчно е да споменем, че нуждите от изкуствените заместители на костната

тъкан напоследък се увеличават с бързи темпове и че те удовлетворяват в голяма степен изискванията на хирургията.

Дисертацията обхваща 111 страници, съдържа 23 фигури и 2 таблици. Библиографската справка включва 162 литературни източника, основно от чуждестранни източници през последните 10 години. Тя е оформена по общоприетия начин и се състои от 8 части – увод, обзор на литературата, цел и задачи, материали и методи, експериментални резултати, обсъждане, изводи и литературна справка.

В литературния обзор (49 стр.) са разгледани подробно въпросите за структурата и функциите на костната тъкан, тъканното инженерство на кости, биоматериалите, използвани в тъканното инженерство на кости, биоцименти базирани на калциев фосфат, композити на калциевите фосфати с колаген, апатит-нанодиамантни композитни покрития, многослойни покрития на биоматериалите посредством LbL техниката, взаимодействие на клетките с биоматериали, етапите на клетъчната адхезия, структурата и функциите на интегриновите рецепторни протеини, структурата на фибронектин, колаген и др. Обзорът прави много добро впечатление, той е добре систематизиран, съответства изцяло на целите на дисертацията и е свидетелство за задълбочените познания на докторантката в тази област. Целите и задачите са ясно формулирани. Същото може да се каже и за раздела Материали и Методи, съдържащ 11 стр., където са описани подготовката на образци от α -трикалциево фосфатен цимент (α -ТСР), на композити с колаген, методите за измерване на кохезионното време и времето на втвърдяване, получаването на АП-НД покрития, получаване на колаген и на FITC-маркиран фибронектин, определянето на клетъчна адхезия и обща клетъчна морфология, покриването на материалите с фибронектин и телешки ембрионален серум, оцветяването с флуоресцеин-диацетат и др. Използваният методичен арсенал е адекватен и достатъчен за решаването на поставените цели и задачи.

В раздел Резултати (24 стр.) са описани изследванията върху времената на кохезия и втвърдяване на различните видове α -ТСР-цименти и охарактеризиране повърхността им с отчитане влиянието на колагена; биологично охарактеризиране на различните видове α -ТСР – цименти и оценка на ефекта на повърхностно и обемно модифициране с колаген; върху началната адхезия на MG-63 и стволови клетки. Интересни резултати са получени при

изследванията на α -ТСР-цименти модифицирани с мултислоеве, взаимодействието на човешки остеобласти с мултислоеве отложени върху стъкло и върху α -ТСР цименти, при биологичното охарактеризиране на АП-НД покрития; адсорбцията на фибронектин, ефектите на серум, фибронектин и витронектин върху началната адхезия и др. Проследено е формирането на фокални адхезионни комплекси - местата където се осъществява действителният физически контакт на клетката с повърхността на материала - чрез имунофлуоресценция за винкулин, който е основният цитоскелетен белтък от който се състоят фокалните адхезионни комплекси. Изследвано е чрез имунофлуоресценция и реорганизацията и формирането на фибронектинов матрикс при по-продължителна инкубация върху АП и АП-НД повърхности.

Получени са редица оригинални резултати, от които бих отбелязал по-важните:

1. Добавянето на колаген към α -ТСР цементите води по-равномерно разпределение на хидроксиапатитните кристали и до подобряване на взаимодействието с клетки (остеобласти).
2. Взаимодействието на остеобластите с цименти или други биоматериални повърхности може да се модулира посредством отлагането на полиелектролитни слоеве (чрез LbL техниката), като е показано, че адхезията зависи от стойността на рН при която е отложен слоя.
3. Пре-адсорбцията с фибронектин, колаген или серум върху модифицираните α -ТСР цименти допълнително подобрява взаимодействието с остеобласти.
4. В присъствие на нанодиаменти в хидроксиапатитните покрития се наблюдава увеличаване адсорбцията на фибронектин, което води до много по-добро прикрепване на остеобластите.

Освен това считам, че в дисертацията са постигнати и някои приноси с приложно-методичен характер, както следва:

- Предложена е техника за изготвяне и характеризирание на образци от α -ТСР цименти подходящи за биологични изследвания

- Предложена е лабораторна технология с алгоритъм за нанасяне на хидроксиапатитни и композитни нанодиамантни покрития върху метални импланти
- Приложена е LbL техниката за мултислоино нанасяне за повърхностно модифициране на хидроксиапатитните цименти чрез формиране на полиелектролитни мултислоеве от хепарин и хитозан.

Получените резултати са правилно отразени във формулираните 3 извода и 3 приноса на дисертацията, които приемам.

Разделът Обсъждане (13 стр.) прави много добро впечатление. Направен е обстоен анализ на собствените резултати в светлината на съществуващи литературни данни от който личи, че докторантката е способна да прави задълбочена интерпретация на научни резултати и е достигнала до зрялост в развитието си като изследовател.

Към оформянето на дисертацията могат да бъдат направени много малко забележки, въпреки че са в наличие доста печатни грешки, които биха могли да се избегнат; не липсват и някои лесно заменими чуждици (напр. думи като „еквибриум“, „инициална адхезия“ и др.). Величините „площ на разстилане“ и „окръгленост“ на клетките не са описани в раздел Методи и на читателя не става ясно как са определяни; не е посочена дименсията на величината „окръгленост“ на Фиг. 3.1.4.В (грешно изписана в текста като Фиг. 4.В); на Фиг. 1.1. дименсията на величината „време на кохезия“ T , е дадена по необичаен начин; често изпозваното съкращение „АП-НД“ липсва в списъка на съкращенията; в раздел Обсъждане е дискутирано измервания на контактния ъгъл при LbL метода без да са дадени конкретни данни за контактните ъгли в раздел Резултати; не е посочено времето на изчакване в различните разтвори при LbL метода.

Тези дребни неточности обаче не развалят много доброто общо впечатление от стила на докторантката. Това впечатление се създава и от коректното и ясно описание на получените експериментални резултати.

Авторефератът съответства по съдържание на дисертацията. Списъкът на публикациите по темата на дисертацията съдържа 2 излезли научни статии в специализирано международно списание с импакт фактор 2. 325 и една глава в

книга на международно издателство (под печат). В една от статиите Христова е на първо място.

Познавам добре Камелия Христова още като наша студентка в Биологическия факултет на СУ. Като магистрантка в програмата „Клетъчна биология и патология” към Катедрата по „Цитология” тя посещаваше по собствен избор курса ми по „Моделни мембрани” към Катедрата по Биохимия и показва отличен успех, много висока любознателност и мотивация за научна работа. Тази приносна дисертация за мен е доказателство за големия напредък който тя е направила. Разбира се, тя е имала шанса да попадне в група традиционно занимаваща се от дълги години в тази област под ръководството на Проф. дбн Георги Алтънков, който е международно признат учен в областта.

Заклучение:

Приемам изводите и приносите в дисертацията, като добре обосновани от експерименталните данни и интерпретирани професионално.

Като цяло, дисертационната работа допринася за изясняване на редица аспекти на взаимодействията на клетки с биоматериални повърхности, на биологичното им охарактеризиране и оценка за съвместимостта им, с оглед създаване на заместители на костната тъкан. В дисертационния труд са получени съществени и оригинални научни резултати и факти, които имат потенциал за бъдещо приложение в хирургията и медицината. Докторантката се е справила успешно с големия обем работа и трудните експериментални техники и е написала дисертационния труд на високо професионално ниво.

Качествата на дисертацията задоволяват напълно изискванията на вътрешния Правилник на Института по биофизика и биомедицинско инженерство – БАН, произтичащ от ЗРАС в РБ, поради което убедено препоръчвам на уважаемото Научно жури присъждането на Камелия Тодорова Христова на образователната и научна степен "доктор".

25.11.2011 г.

Проф. дбн З. Лалчев:

