



## РЕЦЕНЗИЯ

от проф. д-р. Доброслав Кюркчиев, д.м.н.

Началник лаборатория по Клинична имунология, УМБАЛ „Св. Иван Рилски”,

Катедра по Клинична имунология,

МФ, МУ- София

на дисертационен труд на тема

*„Изследване на взаимодействието между мезенхимни стволови клетки и туморни  
линии”*

с автор:

Милена Стефанова Костадинова

Научен ръководител

доц. Милена Мурджева

Представеният ми за рецензия труд третира изключително актуален проблем и то в съответствие на модерните концепции за туморното развитие. Наред с огромната социална значимост на злокачествените заболявания все по-актуална става проблематиката за алтернативните подходи в тяхното терапевтично повлияване. От тази гледна точка от ключово значение се явява взаимодействието между туморните клетки и клетките, които комуникират с тях, в конкретния случай мезенхимните стволови клетки (МСК). Представеният ми за рецензия дисертационен труд е структуриран по класическата схема: литературен обзор, цел и задачи, материали и методи, резултати, дискусия, заключение, изводи и приноси. Наред с това г-жа Костадинова е добавила раздели : хипотези, перспективи и приложения, което считам за адекватен подход, който допълва и индивидуализира дисертационния труд. По отношение литературния обзор, считам, че той е написан ясно, интелигентно, последователно, смислено и подробно. Реализиран е на базата на богата литературна справка с фигури и таблици с висока информативност.

Бих отличил два аспекта в литературния обзор. Първият от тях е осъществената идея мезенхимните стволони клетки да бъдат разгледани не сами по себе си, а в контекста на туморната строма, наред с други клетъчни популации и структури. Това е изключително важно защото демонстрира разбиране за смисъла на взаимоотношенията между туморните клетки и туморна микросреда, взаимоотношения ключови за туморното развитие и актуални при модерните терапевтични стратегии. Вторият аспект, който прави много добро впечатление е описанието на формите на клетъчна смърт: некроптоза, пироптоза и особено апоптоза. Имайки предвид сложността на тези процеси, както и базисната роля, която има изследването на апоптозата в настоящата дисертация, считам, че докторантът е намерил много добър баланс между подробното описание и излишното затъване в биохимични детайли. Някои забележки:

- 1.) Лично за мен беше изненада, че никъде при иначе подробното описание на взаимоотношенията злокачествени клетки / туморна микросреда, тези взаимоотношения не са описани чрез понятията „stromal corruption” и “TILs” (tumour infiltrating lymphocytes) две базисни понятия в туморната имунология, които биха дали допълнителен смислов заряд в този толкова важен аспект на литературния обзор.
- 2.) Липсва концепцията за способността на МСК за трансдиференциация, процес изключително важен, особено през призмата на злокачествените заболявания.
- 3.) Фигура 2 описва имуносупресивния ефект на МСК върху Т и В лимфоцитите чрез взаимодействието PD-1- PD1L. Взаимодействието е обратното PD-1L – PD-1, тъй като МСК експресират лиганда, а Т и В клетките молекулата PD-1.
- 4.) На стр. 18 се използва термина „противовъзпалителна среда“, който считам за неточен.

Целта на дисертацията, както и поставените задачи са формулирани ясно, точно и недвусмислено, без излишно разводняване и неопределеност.

Раздел „Материали и методи“ е описан подробно, като първо са описани използваните материали, а после методологичните подходи, които са предприети. Лично аз оценявам високо факта, че са разгледани три различни туморни линии, два вида МСК, като е обърнато внимание, както на прекия контакт, така и на влиянието само на кондиционираните среди. Считам, че този подход, който е значително по-рисков за получаване на противоречиви резултати показва стремеж към научно познание в по-голяма степен, отколкото ако се действа на сигурно с изчистени експериментални постановки. Изключително информативно са представени фигурите 7 описваща

комуникацията анексин V и фосфатидилсерин и фиг. 8 описваща изследваните жизнени параметри на туморните клетки. Към този раздел имам една забележка:

1. ) При описанието на трипсинизирането не е споменато, че процесът се стопира с DMEM, който съдържа серум. Отчитам това за важно тъй като реално серумът стопира трипсиновото действие.

Част „Резултати“ първоначално акцентира върху стъпките в характеризиранието на МСК: морфология, флоуцитометричен анализ и диференциация в адипогенна и остеогенна посока. Следващият топик е изследването на пролиферцията, виталността и апоптозата при трите използвани клетъчни линии при пряк контакт и кондиционирани среди от костно-мозъчни и адипозно-тъкани мезенхимни стволови клетки. Резултатите са много добре подредени, онагледени и лесни за възприемане. Особено значение към тази част отдавам на анализа на донорната специфичност на МСК. Тук отново се забелязва коректността на автора и неговия научен ръководител. Без да се впускат в пожелателно мислене те проявяват критичност към възможността да се направят недвусмислени изводи в посока идеалната полезност на мезенхимните стволови клетки. Към тази част имам един въпрос:

- 1.) В критериите на ISCT, на които г-жа Костадинова се обляга при последователното доказване на характеристиките на МСК основно място заема доказване на self-renewal (самообновление). Това базисно свойство за стволовите клетки по принцип се доказва чрез способността им да формират колонии – тест за клоногенност. Защо не е акцентирано върху този аспект ключов за природата на стволовите клетки?

Раздел „ Дискусия“ подредено, критично и аналитично интерпретира получените резултати, които се сравняват с широка база данни от други авторски групи. Два аспекта тук правят впечатление. Първият е анализът на амбивалентните данни относно комуникацията на МСК с туморните клетки: про и анти-туморно действие, както в контекста на получените резултати, така и в сравнителен план с данни на други изследователски центрове. Вторият аспект за мен е може би най-силната част в дисертационния труд - анализът на възможните междуклетъчни комуникации чрез tight junction, gap junction, трогоцитоза, паракринно цитокиново въздействие и микровезикули. Подробният анализ на тези взаимоотношения считам за безусловно необходимо с оглед на опитът за изясняване на механизмите на междуклетъчното взаимодействие, водещо до съответния ефект и тук дисертантът се е справил великолепно.

Заклучението на дисертационния труд сумира в аналитичен план получените резултати. Напълно приемам направените изводи и оценката на приносите на дисертацията. Имам една забележка към направените изводи. В два от тях 3-ти и 5-ти има спекулации, които вече са правени в част „Дискусия“. Не мисля, че идеята на раздел „Изводи“ е да има спекулации.

Исклучително приятно впечатление в целия дисертационен труд прави подредената информация, добрия език и хубавия изказ при почти пълна липса на пунктуационни и граматически грешки и неточности. Въпреки това има някои неща в това отношение, с които работата само допълнително би спечелила. Термини като „трансуел“ и „хоуминг“ написани на български поражда недоумение. По мое мнение подобни приети в науката термини следва да се изписват на оригиналния език, в случая английски. Наред с това голяма част от фигурите са на английски език, което вероятно се дължи на факта, че са копирани и сложени от публикуваните статии. Считаю, че по отношение на това е можело да се вложи повече старание.

По отношение на частите „Хипотези“, „Перспективи“ и „Приложения“ още веднъж бих искал акцентирам на доброто впечатление, което ми прави тяхното наличие и описание. Докато „Хипотези“ формулира един научен теоретичен потенциал, който е плод на резултатите получени от автора, то „Перспективи“ поглежда към бъдещите търсения на базата на полученото дотук и анализирано в контекста на теоретичните знания. Част „Приложения“ представлява подробна характеристика на трите туморни линии, което е безусловно необходимо като информация с оглед на цялостната идея на дисертационния труд. Използваните литературни източници включват 379 заглавия, което подпльтвя теоретично частите „Литературен обзор“ и „Дискусия“. Доколкото мога да преценя са използвани публикации на някои водещи експертни групи по темата, които докторантът и неговия научен ръководител са сметнали за необходимо да включат.

По темата на дисертацията има две научни публикации, три научни проекта, както и данните са представяни на конгреси и конференции.

В заключение, представеният ми за рецензия дисертационен труд се характеризира с актуална идея, интересен замисъл и добро изпълнение. Данните са представени и анализирани смислено, коректно и информативно. Поради тези причини, бих си позволил да препоръчам на уважаемото жури да присъди на г-жа Милена Костадинова научната и образователна степен „доктор“.

02.03.2021

проф. д-р. Д. Кюркчиев, дмн