



РЕЦЕНЗИЯ

на дисертационния труд: Получаване и характеристика на индуцирани плурипотентни стволови клетки

представен от Елена Николаева Стоянова-Петрова

от д-р Стефан Радославов Лолов,
професор към секция "Имунобиология на размножаването", ИБИР-БАН

Обичайно неконтролираният растеж на нискодиференцирани клетки има отрицателен ефект и природата използва редица механизми да го възпрепятства. Част от тези механизми са относително добре проучени в стремежа за контрол върху неопластичните процеси. Дисертацията е фокусирана върху експериментално повлияване на същите тези механизми, но с обратна насоченост – да се постигне контролиран клетъчен растеж с контролирана диференциация.

Както личи още от **увода** на рецензирания труд, ембрионалните стволови клетки имат ограничено практическо приложение и усилията са насочени към получаване на плурипотентни стволови клетки чрез ядрено препрограмиране.

Съвсем логично, **литературният обзор** започва с дефиниции за различните типове стволови клетки. Уместно са представени и схеми, лично дело на докторантката. Точни и пълни са, и двете разгледани класификации на типовете клетки, без обаче да се посочват авторите им.

Получаването на плурипотентни стволови клетки вече има своята лабораторна реализация и голям брой възможности за практично приложение. Без излишни подробности, това съвсем коректно е представено, след което обзора се спира на условията за култивиране и на характеристиките на индуцираните клетки.

Всеки раздел в обзора завършва с кратък и ясно формулиран извод. За да се избегне излишно повторение, вероятно е добре тези мотивирани заключения да се съберат в обособен раздел „Изводи от литературния обзор“.

Дефинираната „**цел**“ е несъмнено значима. Веднага искам да подчертая, че тя е формулирана в период, когато подобни стремежи бяха новаторство в световен аспект. Нямам забележки по набелязаните „**задачи**“ – те са логично следствие една на друга и на очертаните в обзора проблеми.

Разработката е методична и съответно на раздела „**материали и методи**“ е обърнато подобаващо внимание. Процедурите са описани достатъчно подробно, за да може при необходимост експериментите да се повторят. Тези от тях, с които съм запознат са представени точно, на места в излишни детайли. Продукцията на ретровируси и инфектирането на клетки удачно са онагледени схематично (фиг. 5).

С изложеното в литературния обзор и с овладяването на представените методи е реализиран важен етап от образователната програма на един

експериментатор. Съгласно предоставената документация Елена Стоянова напълно е отговорила на формалните изисквания за завършване на докторантура. Личните ми наблюдения върху лабораторните умения на дисертантката също са в подкрепа на този извод.

Логиката във формулирането на задачите е спазена и в излагането на **резултатите**. Находките са представени със снимки, отговарящи на изискванията за научна илюстрация – качество, обозначения, крайно увеличение, текст под фигурата. Убеден съм, че всички експерименти имат „адекватни“ контроли, въпреки че не навсякъде това е отразено (фиг. 8 – контрола с клетки трансфектирани с „празен“ рМХs; стр. 56; фиг. 26 – фиг. 31). Установяват се разлики в експресионните профили на получените клонове, което изключва систематична лабораторна грешка.

В обзора за различните публикувани методи за индукция почти винаги се цитира ефективността им – обичайно твърде ниска. Във втората част от експериментите докторантката представя впечатляващи резултати от провеждането на епигенетична модулация с валпроева и аскорбинова киселини.

Обсъждането е несъмнено интересно и реално отговори на възникнали у мен въпроси по резултатите. Направена е критична съпоставка с използваните от други автори методи за препрограмиране, за епигенетична модификация и за характеризирание на получените клонове. С това смятам, че този раздел от дисертацията също съответства на изискванията.

В няколко параграфа докторантката формулира адекватен план за продължаване на изследванията (стр. 94). Фундаментални проучвания целящи фактоописание могат да се приемат без подобен раздел, но за методичните разработки конкретизирането на пътя да реалното им приложение е съществено. Убеден съм, че целта на работата е постигната и вероятно е добре да се обособи заключение. Нямам забележки към направените **изводи**.

В отделен раздел са формулирани и **приноси** – няма да ги коментирам, защото според мен това е много популярна и напълно безмислена практика. Представеният ми „**проект за автореферат**“ отразява същината на дисертацията, но при възможност да се публикува целия ръкопис, също представлява анахронизъм. Съгласно проверката на случайно избрани автори, списъка на **цитираната литература** е пълен и точен. Прави впечатление, че е оформен безупречно.

Авторката правилно използва специфичната терминология, но е добре, да се даде дефиниция за „конститутивно активни лентивирусни вектори“ (стр. 20), „loxP места – Cre рекомбиназа“ и „piggyBac транспозоми“ (стр. 21) – понятия ясни само за тесните специалисти. Вероятно е още по-разумно да се спестят тези подробности за сметка на обобщителни формулировки.

Част от направените твърдения и ключови моменти в текста са типографски подчертани, без излишно да се набляга на цели пасажии. С това е постигната по-голяма „структурираност и четливост“ на ръкописа.

Имах възможност да се запозная с ръкописа в относително ранен етап. В окончателната версия с удоволствие установявам, не просто корекция на отправени забележки, а множество допълнителни поясняващи параграфи.

Стилистични забележки:

За разлика от други дисертационни трудове, рецензираният се отличава с минимално количество чуждици и „научен жаргон“ (рунда на трансфекция, дузини опитни животни, мишки от шам). Срещат се, обаче странни умозаклучения: „диференциацията се постига чрез асиметричното делене. При това делене само едната от двете дъщерни клетки запазва характеристиките на стволова клетка, а другата поема по пътя на диференциацията“ (стр. 7). Има изречения с повторение на някои думи – „клетка“ (трикратно – стр. 13), „получаване-тератоми“ (2x2 – стр. 30). Дори в „ЦЕЛТА“ думата клетка е употребена ненужно двукратно, а „за ИЗПЪЛНЕНИЕ на така поставената цел бяха ИЗПЪЛНЕНИ следните задачи“ (стр. 32). Неправилната употреба на местоимения води до двусмислие (стр. 14).

Технически забележки:

1. Номерацията на страниците обичайно започва от увода, а не от корицата;
2. Таблица 1, която заема цяла страница, следва да е представена след цитирането ѝ (на стр. 17, а не на стр. 18).
3. Фиг. 4 (стр. 26) е отпечатана след заглавието на следващия раздел.
4. Част от използваните съкращения не са дефинирани (НЗК, стр. 29)
5. Не е посочен производителя на използваните китове.
6. За част от апаратурата са използвани различни названия – „термостат“ и „СО2 инкубатор“.
7. Количеството на използваните ензими е посочено като „единица рестриктазен ензим“, а не в UI.
8. Не е упоменато как е фотографиран агарозния гел.

Получените резултати и тяхното обсъждане са добили публичност чрез три научни форума и две излезли от печат статии, едната в списание с IF. Не е представена справка за цитирания.

Заклучение:

По отношение обема и качествата на експерименталната работа, **труда отговаря на изискванията за докторска дисертация, а образователната страна на програмата напълно е реализирана.** Получените научни резултати са добили публичност. Убедено препоръчвам на Елена Николаева Стоянова-Петрова да се присъди научната степен „доктор“.

вторник, 21 юли 2015 г.

Подпис:

