

СТАНОВИЩЕ

Университет "Проф. д-р Асен Златаров" 8010 Бургас, Бул. "Проф. Якимов" №1	
Рег. № 2176	03.09.2021 г.

от доц. д-р инж. Настя Василева Иванова, Технически университет – София, Факултет и Колеж - Сливен

Относно: разкрита процедура за защита на дисертационен труд във ФТН – Университет „проф. д-р Асен Златаров“ - Бургас на редовния докторант Димитрина Румянова Кръстева на тема: „Имунофлуоресцентен анализ на стволни клетки на базата на магнитни наночастици“, за получаване на образователна и научна степен „доктор“ по докторска програма 02.11.11. *Технология на биологично активните вещества (вкл. ензими, хормони, белтъци)* от професионално направление 5.11. *Биотехнологии*, област от висшето образование 5. *Технически науки*

Настоящото становище е изготвено на основание Заповед УД – 166 от 19.07.2021 год. на Ректора на Университет „проф. д-р Асен Златаров“ – Бургас, както и на основание на чл. 44 от Правилника за условията и реда за придобиване на научни степени и заемане на академични длъжности в същия университет.

Представената за становище дисертация е на тема: „Имунофлуоресцентен анализ на стволни клетки на базата на магнитни наночастици“ и е изготвена от маг. инж. Димитрина Румянова Кръстева – редовна докторантка, с научни ръководители доц. д-р инж. Катя Иванова Габровска и доц. д-р инж. Явор Луканов Иванов.

Становището е написано съобразно: Закон за развитие на академичния състав в Република България (ЗРАСРБ); Правилник за прилагане на Законът за развитие на академичния състав в Република България (ППЗРАСРБ); Правилник за условията и реда за придобиване на научни степени и заемане на академични длъжности (ПУРПНСЗАД) в Университет „проф. д-р Асен Златаров“ – Бургас.

1. Кратки биографични данни

Инж. Димитрина Кръстева завършва висшето си образование в УХТ – Пловдив, където придобива ОКС „бакалавър“ (2009 год.) и след това в Университет „проф. д-р Асен Златаров“ – Бургас, където придобива ОКС „магистър“ по специалност "Анализ и контрол на храните" (2016 год.). От 2017 год. започва редовна докторантура в катедра „Биотехнология“ на Университет „проф. д-р Асен Златаров“ – Бургас.

Кръстева има много-добри компютърни умения, владее добре английски език.

2. Общо описание на представените материали

Инж. Кръстева е представила всички необходими документи, съгласно изискванията на Законът за развитие на академичния състав в Република България и съответните правилници за прилагането му:

- Заповед УД – 166 от 19.07.2021 год. на Ректора на Университет „проф. д-р Асен Златаров“ – Бургас;
- Дисертация за присъждане на образователна и научна степен „доктор“;
- Атореферат на дисертация за присъждане на образователна и научна степен „доктор“;
- Автобиография;

- Копия от публикациите, включени в дисертационния труд.

3. Обща характеристика на дейността на докторанта

Приложението на стволовите клетки и тяхното качествено и количествено оценяване е един много важен проблем, по който се работи през последните години. Едно добро решение за различни злокачествени и незлокачествени заболявания е трансплантацията на стволови клетки. Върху жизнеспособността на тези клетки влияят криоконсервирането и размразяването на клетъчната популация. Ето защо определянето на броя на жизнеспособните клетки е един от важните показатели за успешното провеждане на трансплантацията при лечението на пациентите.

Представената дисертация третира един важен проблем, свързан с изследване на способността на полученият имобилизиран конюгат анти-CD34+ моноклонално антителио-dR110 върху магнитни наночастици (МНЧ) и свободен конюгат анти-CD45+ моноклонално антителио-АТТ0620, както и на новия флуоресцентен образен цитометър EasyCounter BC (Милкотроник, България) за прецизно изброяване на CD34+ и CD45+ клетки в кръвни проби. Като се има предвид това считам, че темата на дисертацията е актуална.

В тази научна разработка докторантката предлага вместо метода поточна цитометрия, чийто апаратурата е сложна, изисква специално обучен и квалифициран специалист и отнема 2-3 часа, да се прилага имунофлуоресцентен цитометричен метод използващ магнитни наночастици, като носител за имобилизация на флуоресцентно маркирано специфично антителио срещу CD34+ клетки. Това е много перспективно и ще доведе до едновременно изолиране и концентриране на стволовите клетки, което ще осигури по-точното им преброяване.

Темата на дисертацията е актуална, съвременна и много удачно подбрана за образователната и научна степен „доктор“, имайки предвид целта на докторантката: „да разработи имунофлуоресцентен цитометричен анализ за едновременно определяне на броя на CD34+ клетки и CD45+ клетки в кръвни и аферезни проби, с помощта на синтезирани имуноконюгати в свободна и имобилизирана форма и флуоресцентен образен цитометър EasyCounter BC.

Дисертационният труд на докторантката Кръстева е в обем от 175 страници, в т.ч. 10 таблици, 50 фигури, 207 литературни източника на латиница (само един е на кирилица). Тя е структурирана много добре, написана е точно и стегнато, на много добър научен език и съдържа основните раздели: Въведение, Литературен обзор, Цел и задачи, Експериментална част, Резултати и обсъждане, Изводи, Литература.

В „Литературния обзор“ е направен много аналитичен и изчерпателен преглед, който дава представа за състоянието на проблемите по дадения въпрос в световен мащаб. Обоснована и анализирана е актуалността и необходимостта от разработваната тема.

В края на „Литературния обзор“ докторантката е направила своите изводи, въз основа на които са формулирани ясно и точно целите и задачите на дисертационния труд в раздел II.

В раздел „Експериментална част“ са описани използваните материали, апаратура и разработените методи за: получаване и пречистване на флуоресцентни конюгати на анти-CD34 антителио; доказване на активността на флуоресцентните конюгати на анти-

CD34 антитяло към стволови клетки (CD34 клетки); получаване и пречистване на флуоресцентни конюгати на анти-CD45 антитяло; изолиране на левкоцити от периферна кръв; доказване активността на флуоресцентните конюгатите на анти-CD45 антитялото към левкоцити (CD45 клетки); определяне на линейността и възпроизводимостта на анализа с EasyCounter BC; имунофлуоресцентен анализ за едновременно определяне на броя на CD34+ и CD45+ клетки чрез - автоматичен образен цитометър Easy Counter BC, микроскоп Olympus, поточен цитометър Guava и др.

В „Резултати и обсъждане“ са представени проведените експерименти, резултатите от тях, както и интерпретацията им. Всички резултати са представени прегледно под формата на таблици и графики. Докторантката много точно е описала и анализирала получените опитни данни.

Въз основа на проведените изследвания и анализи получените резултати са обобщени в края на дисертационния труд под формата на 15 общи извода. На тази база биха могли да се посочат и по-съществените приноси, които са със научно-приложен характер:

- Синтезирани са два нови конюгати за определяне броя на CD34+ и CD45+ клетките - анти-CD34антитяло-dR110 и анти-CD45антитяло-ATTO620;

- Доказана е възможността флуоресцентният образен цитометър EasyCounter BC да бъде използван за броене на стволови клетки и да осигури бърз, лесен и точен автоматичен анализ;

- За първи път е разработен имунофлуоресцентен анализ за едновременното определяне на CD34+ и CD45+ клетки с имобилизиран конюгат анти-CD34антитяло-dR110 върху МНЧ, осигуряващ сепариране и концентриране на свързаните към конюгата стволови клетки и съответно по прецизно преброяване.

Използваната литература е описана съгласно изискванията и е цитирана много умело. Използвани са чужди литературни източници, което говори за добро владение на английски език от страна на докторантката.

Резултатите, представени в дисертационния труд, са оформени в четири научни статии, две от които са публикувани в престижен журнал с Impact factor: Anal. Biochem. (Impact factor 2.877) – статия № 1 и статия № 2. Статии № 3 и № 4 са публикувани в Annual of Assen Zlatarov University, Burgas, Bulgaria (vol. XLVII, vol. XLIX). Във всички публикации докторантката е на първо място. Освен това част от резултатите са докладвани и на: International Conference CHIMIA 2018 “New trends in applied chemistry” в Констанца, Румъния; The 5th International Conference - New Trends on Sensing - Monitoring - Telediagnosis for Life Sciences” в Букурещ, Румъния; European Biotechnology Congress 2020, Прага. Докторантката е участвала и в Студентски научни сесии на университет „Проф. д-р Асен Златаров” – Бургас през 2018 и 2019 год.

От посоченото по-горе става ясно, че докторантката има съществен принос в разработването на научните статии по дисертацията. По отношение на самата дисертация съм убедена, че тя е нейно лично дело.

През 2018 и 2019 год. докторантката Кръстева е участвала и в проект BG16RFOP002-1.005-0031-C01 Разработване на иновативен продукт – образен цитометър „ Hand – held“, финансиран от Оперативна програма „ Иновации и конкурентоспособност“, съфинансирана от Европейския съюз чрез Европейския фонд

за регионално развитие на тема: „Разработване на китове за анализ на бактерии и приложението им в биотехнологичната промишленост“.

Положително е, че докторантката има вече един цитат от чужди автори (J. Mater. Sci. Technol., 9, 67–77. (Impact factor: 6.155)) на нейна статия (№ 1).

Друг положителен елемент е, че докторантката е натрупала известен педагогически опит, тъй като е водила упражнения на студенти в университета по различни дисциплини в областта на биотехнологиите и хранителните технологии (била е хонорувана преподавател през 2020 и 2021 год.).

Към докторантката Димитрина Кръстева имам някои препоръки:

1. Да продължи научно-изследователската си дейност в областта на биотехнологиите;
2. Да продължи усъвършенстването си в педагогическата дейност, свързана с биотехнологиите и хранителните технологии

Заклучение: Давам положителна оценка на дисертационния труд на тема: „Имунофлуоресцентен анализ на стволови клетки на базата на магнитни наночастици“ и препоръчвам на научното жури да присъди на **Димитрина Румянова Кръстева** образователната и научна степен „доктор“ по специалност **02.11.11 „Технология на биологично активните вещества (включително ензими, хормони, белтъци)“**, съгласно Закона за развитие на академичния състав в Република България.

01.09.2021г.
Сливен

Член на журито:

/доц. д-р инж. Н. Василева/

Подпис заличен

Чл.2 от ЗЗЛД