

СТАНОВИЩЕ

Върху дисертационния труд на асистент Ася Свиленова Цанова докторант към Катедра Биохимия, Биологически факултет, СУ „Климент Охридски“ за присъждане на образователната и научна степен „доктор“ по научната специалност 4.3 Биологически науки (Молекулярна биология)

Свойства и механизми на действие на неuropeптиди с моделни мембрани с оглед приложението им във фармакологията

от проф. Диана Христова Петкова, д.б.н, Институт по биофизика и биомедицинско инженерство, БАН

Създаването на нови лекарствени форми е от голямо значение за правилната и съвременна терапия на редица патологии. Една от основните цели е да се синтезират аналози на различни лиганди, които да притежават много по-висока биологична активност от природните за да се насочат процесите в желаната посока. За изследването на специфичните свойства на новосинтезираните вещества, чието действие се осъществява чрез взаимодействие с клетъчни мембрани, трябва да се използват подходящи моделни системи, които се доближават до структура и състав на прицелните мембрани. Методите, които се прилагат трябва да са бързи, чувствителни за да могат да регистрират минимални промени в състоянието на мембранния бислой и да дават достатъчно информация за промените настъпили при специфичните взаимодействия.

В настоящата дисертация са проучени взаимодействията на синтетични неuropeптиди- метионин-енкефалин и левцин-енкефалин, както и техните амидирани производни с монослойни и бислойни липидни филми като модел на клетъчните мембрани. Изследването на механизмите на взаимодействието на неuropeптите с мембранни структури е от съществено значение, тъй като при включване в организма те трябва да преодолеят няколко бариери като мембраните на чревния тракт и кръвно-мозъчната бариера за да достигнат мястото на тяхното действие. Използваните методи – метод на Langmuir за формиране и изследване на монослоеве, метода на Wilhelmu за измерване на повърхностно напрежение, Брюстер-ъглова микроскопия за изследване морфологията на монослоеве, микроинтерференчния метод на Шелудко и Ексерова за

образуване и изследване на бислойни тънки течни филми са много удачно подбрани, тъй като те позволяват да се определят микроскопични промени в структурата на бислоя дължащи се на промени в състава или на взаимодействията с невропептидите.

Дисертацията е оформена на 137стр., от които Увод-2 стр., Литературен обзор - 30 стр Цел и задачи- 2 стр., Материали и методи-13 стр, Резултати и дискусия- 70 стр., Изводи – 4стр., Приноси -2 стр., Литература -5 стр. Обзорът и резултатите са илюстрирани с 69 фиг. и 1 таблица.

В литературния обзор са описани подробно природата и действията на невропептидите, техните антагонисти, агонисти и инхибитори, механизмите на взаимодействията на невропептидите с липидни моделни мембрани, видовете моделни и нативни мембрани , техните свойства и методите за изследване на структурата им. Голяма част от използваната литература е от последните 10 години, което говори, че авторката е запозната със съвременните тенденции за изследване биологичната активност на новосинтезираните фармакологично активни вещества, което е помогнало съществено за теоретичната и подготовка.

Целта на настоящата дисертация е ясно и точно формулирана. Задачите избрани за реализирането ѝ са удачно подбрани.

Според мен основните резултати на представения ми за рецензиране труд са следните като те могат да се разделят на две групи:

1. Изследвания върху моделни системи изградени от DMPC и DMPG
 - Доказано е, че проникването на метионин-енкефалин и амидираната му форма зависи от заряда на фосфолипидите изграждащи Лангмюировите монослое.
 - Установено е, че проникването на невропептидите зависи и от заряда на енкефалиновата молекула, което обяснява значението на електростатичните взаимодействия при този процес.
 - Чрез Брюстер-ъглова микроскопия са доказани различни промени в морфологията на монослоеве при взаимодействия с немодифициран и амидиран метионин-енкефалин като тези промени зависят отново от заряда на фосфолипидите.
 - Изследването на влияние на енкефалините върху стабилността и кинетиката на изтичане и образуването на тънки течни филми е доказало, че амидираният катийонен енкефалин дестабилизира тънките течни филми от DMPC, променя дебелината и кинетиката на изтичане.

2. Изследвания върху моделни системи близки по състав до рафт домените в мембраните.
- Проведени са изследвания върху моделни структури, които са близки по липиден състав до невроните, които са доказали съществената роля на холестерола при взаимодействията на пептидите с фосфолипидите от монослоя.
 - Доказано е предпочитанието на енкефалините към течно-разтегнатите области на монослоевите и влиянието на структурата на енкефалините върху повърхностната реорганизация на молекулите на монослоя
 - Установено е, че локализацията на енкефалините към течно-подредена или течно-неподредена фаза зависи от заряда на енкефалиновата молекула.
 - Химичната структурата на енкефалините оказва влияние върху морфологията на монослоеве от липиди участващи в структурата на рафт-домените, както и на взаимодействията им с липидните монослоеве.

Изводите и приносите са ясно и точно формулирани и правилно интерпретират основните резултати на дисертационния труд. Според мен някои от изводите могат да се обединят.

Представените изследвания са резултат от една много добре изградена научна идея, която представя логично свързани един след друг експерименти водещи до решаване на основната задача –изследване молекулните взаимодействия между енкефалините и клетъчните мембрани.

Имам някои забележки. На някои места в дисертацията се наблюдават печатни грешки като напр. на стр. 48 вместо 100µм са написани 100мм. Освен това според мен не е необходимо при описание на методите да се описва толкова подробно теоретичните основи на дадения метод.

Резултатите от дисертацията са публикувани в 4 научни статии в наши и реномирани международни списания с общ ИФ -8.311 . Представени са и 8 участия в наши и международни научни форуми. Забелязани са 3 цитирания на публикуваните резултати, което е критерии за тяхната научна стойност.

Авторефератът включва основните резултати от проведените изследвания и напълно отговаря на структурата на дисертацията.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В заключение искам да кажа, че представените резултати доказват по оригинален начин биологичната активност на новосинтезирани аналози на енкефалини чрез комбинация на съвременни методи за изследване на промени в липидните моно- и бислоеве , при взаимодействието на неврпептидите с липидния бислой с цел изясняване основата на молекулните механизми на този процес. Резултатите са публикувани в реномирани международни списания и вече са намерили отзвук в научната литература. Всичко това ми дава пълното основание да предложа на членовете на уважаемото Научно жури да присъди на ас. Ася Свиленова Цанова научната и образователна степен „доктор” по научната специалност 4.3 Биологични науки (Молекулярна биология).

1.10.2014 г..

Проф.. Диана Петкова