

СТАНОВИЩЕ

от проф. дбн Стефка Германова Танева
Институт по биофизика и биомедицинско инженерство - БАН, София

Относно Дисертационен труд
на тема: „Свойства и механизми на действие на невропептиди с моделни мембрани с оглед приложението им във фармакологията”,
представен от **Ася Свиленова Цанова**
за присъждане на образователната и научна степен „Доктор“ по професионално направление 4.3 Биологични науки (Молекулярна биология)
с научен ръководител чл. кор. проф. дхн Здравко Лалчев
съгласно Заповед № РД 38-324/26.06.2014г. на Ректора на Софийски университет „Св. Климент Охридски”

Дисертационният труд, представен от Ася Цанова, е посветен на актуална тематика – взаимодействието на невропептиди с моделни мембрани, разбирането на което е важно за разгадаването на механизмите на действието им и за фармакологичното им приложение.

Изследвани са повърхностното поведение и морфологията на монослойни и бислойни липидни филми формирани от фосфолипиди с различен заряд (димиристоилфосфатидилхолин и димиристоилфосфатидилглицерол), „рафтови“ липиди (1-палмитоил-2-олеоил-sn-глицеро-3-фосфохолин, сфингомиелин, холестерол, и техни двойни и тройна смеси) и липиди, присъстващи във висока концентрация в мембраната на нервните клетки (сфингомиелин, холестерол и техни смеси) преди и след добавянето на природните енкефалини – метионин-енкефалин (Met-enk) и левцин-енкефалин (Leu-enk) и техни амидирани производни.

Приложени са комплекс от експериментални подходи – метод на Лангмюир в комбинация с метода на Вилхелми, Брюстър-ъглова микроскопия и микроинтерферометричен метод на Шелудко и Ексерова, позволяващи формирането на монослоеви и бислойни тънки течни филми, и измерването на повърхностното напрежение и определяне на морфологията им.

Дисертационният труд е представен на 137 страници и е илюстриран с 69 фигури, от които 10 са включени в Литературния обзор, 8 в Материали и методи

и 51 в Резултати и дискусия. Цитирани са 262 източника. Структурата, оформянето и обема (30 страници Литературен обзор, 14 – Материали и методи и 63 – Резултати и дискусия) на дисертационния труд напълно съответства на изискванията за научен труд за образователната и научна степен “доктор”.

Резултатите демонстрират способността на енкефалините да проникват в различна степен в монослоеви, формирани както от отрицателно зареден и цвитерйонен фосфолипиди, така и от липидни компоненти на невроните и липиди, съставляващи мембранните рафтове.

Установено е, че проникването на Met-enk и амидираната му форма Met-enk-NH₂ в монослоеви от отрицателно зареден (DMPC) и цвитерйонен фосфолипиди (DMPG), и от липидни компоненти на невроните, зависи от плътността на монослоя. Амидираният Met-enk-NH₂ прониква в по-висока степен от Met-enk във всички изследвани монослоеви, и зависи от състава и състоянието (течно-разтегнато или течно-кондензирано) на монослоя, което съответства на наблюдаваните промени в повърхностната морфология на монослоевите след добавянето на изследваните енкефалини.

Посредством микроинтерферометричен метод е показано, че при смесването на DMPC с Met-enk се формира обикновен черен филм с по-голяма равновесна дебелина от филма, формиран от чист DMPC, и съответно времето за образуване на стабилен филм е по-високо. Показано е, че амидираната форма на енкефалина води до дестабилизиране на контактните монослоеви, тъй като формираните филми от DMPC/Met-enk-NH₂ изтичат много по-бързо от тези в присъствие на немодифицирания енкефалин и са нестабилни.

Демонстрирано е по-силно влияние на амидираната форма на левцин-енкефалините върху морфологията на монослоевите, което води до значително хомогенизиране на смесените монослоеви, най-значително при монослойни смеси, съдържащи холестерол.

Взаимодействията рафтови липиди/енкефалини водят до повърхностна реорганизация и промени в латералната еластичност на монослоевите, най-значително в случая амидиран енкефалини/монослой от холестерол.

На базата на получените резултати се предполага, че взаимодействието неврoпептиди/фосфолипиди е резултат от баланса на

електростатични и хидрофобни взаимодействия, като електростатичните взаимодействия имат доминиращата роля. Взаимодействието на амидирания енкефалин с монослоеве формирани от липидни компоненти на невроните се обуславя от формирането на водородни връзки между енкефалина и холестерола.

Дисертационният труд включва значителни по обем изследвания и резултати, и нови научни факти, на базата на които са обобщени 12 извода и 5 приноса, които очертават важните аспекти на изследването. Смятам, че би било добре изводите и приносите да бъдат написани по-синтезирано.

Резултатите са публикувани в 3 статии в международни научни списания с импакт фактор и 1 в списание без импакт фактор. Част от резултатите са представени на 2 научни форума в чужбина и 6 в България. Ася Цанова е първи автор в 4-те публикации. Забелязани са цитати на една от публикациите — това отразява научната стойност и актуалност на получените резултати.

Въз основа на гореизложеното препоръчвам убедено на членовете на научното жури да присъдят образователната и научна степен "Доктор" на Ася Свиленова Цанова.

25.09.2014 г.

Подпис:

проф. дбн Стефка Германова Танева