

РЕЦЕНЗИЯ

**на дисертационния труд на Лилия Иванова Винарова
на тема „Ин-витро изследвания на факторите, влияещи върху
солюбилизацията на холестерол в храносмилателния тракт”, представен
за присъждане на образователната и научна степен „доктор”**

Рецензент: проф. дхн Иван Панайотов

Темата на дисертацията на г-жа Винарова е с подчертано интердисциплинарен характер. Изследването на механизмите на солюбилизацията на холестерола в храносмилателния тракт изисква съвместните усилия на специалисти по биохимия, физикохимия, медицина, фармация. Основна цел на дисертацията е изследване на ролята на калциевите йони и сапонинови екстракти върху солюбилизацията на холестерола (Ch) в хода на липолитичните процеси, протичащи в стомашно-чревния тракт. Дисертационният труд е логично и богато продължение на изследванията на тези процеси в значителна близост до събитията *in vivo* с помощта на развития при предидущи изследвания *in vitro* модел. Този модел е успешно приложен за изследване на фазовото разпределение на липолитичните продукти и холестерола в серума и пермеата след центрофугиране, съответно филтруване. Важно е да се отбележи, че близостта на изследваните в дисертацията моделни системи до ситуацията *in vivo* позволяват да се направят полезни заключения, които са подкрепени от паралелни изследвания *in vivo*. Интерпретацията на възможните механизми на намаление на солюбилизацията на Ch под действие на Ca^{++} и сапонинови екстракти в сложната многокомпонентна дисперсна среда е много трудна задача. Химичният състав на изследваните масла е многообразен, жлъчният екстракт (ЖЕ) е коктейл от повече от 5 жлъчни киселини (ЖК) и фосфолипиди, взаимодействията се осъществяват в сложна колоидхимична среда. Достойнство на изследването е опитът да се интерпретират различните молекулни механизми с помощта на моделни системи, в които химичният състав

на липолитичните продукти моноглицериди (МГ) и мастни киселини (МК) е по-добре контролиран. От тези моделни изследвания се получава по-достоверна информация за солюбилизационния потенциал на МГ и МК в смесените мицели, които те образуват с холестерола. Друго достойнство на дисертационния труд е, че са проведени изследвания на колоидхимичната организация на реакционната среда, напр. с крио-ТЕМ, на размера и формата на смесените мицели. Ще изложа някои от най-съществените резултати в дисертацията заедно с бележките и коментарите си към тях.

В уводната Глава 1 са представени основните идеи и резултати от изследванията на ефектите на Ca^{++} и сапонини върху хипохолестеролемията. Дисертантката познава и борави творчески с литературния материал. В дисертацията са цитирани общо 132 източника, които дават много добра представа за състоянието на областта. Конкретните изследователски задачи са формулирани убедително.

В Глава 2 са представени използваните материали и методи. Усвоени и успешно приложени са голям брой експериментални техники за охарактеризиране на дисперсните системи и количествено определяне на фазовото разпределение на Ch и липолитичните продукти. Използваните в дисертацията съвременни методи и експериментални процедури позволяват получаването на достоверни резултати. Запознаването със съдържанието на общата част ме убеждава, че г-жа Винарова има отлична университетска подготовка в областта на биохимията, физиологията и физикохимията на повърхностите и дисперсните системи.

Глава 3 представя едно експериментално изследване на ефекта на Ca^{++} върху фазовото разпределение на продуктите на липолизата, Ch и ЖК въз основа на сравнение на състава на реакционната смес след липолиза (наречен пълен състав) с този на водните фази отделени чрез филтруване. То е предшествано от определяне на състава на продуктите на липолиза на изследваните масла (основно МГ и МК) в зависимост от концентрацията на Ca^{++} . Изследването на разпределението на МГ и МК между утайката и смесените мицели във водната фаза показва, че солюбилизацията им намалява с нарастване на концентрацията на Ca^{++} .

Изследването на солубилизацията на Ch, произтичащ от ЖЕ като функция от концентрацията на Ca^{++} показва намаление в присъствие на реакционните продукти на хидролиза МГ и МК и позволява да се изкаже предположението, че това е резултат на намаление на броя на молекулите на МГ и МК в смесените с Ch мицели. За доказателство на това предположение са проведени моделни изследвания като функция от концентрацията на Ca^{++} с добре познат състав на трите съучастника (МГ, МК и Ch) в смесените мицели. Тези моделни изследвания показват (Фиг. 3.13), че ефектът е значителен при ненаситените МГ и МК и практически липсва при наситените. Корелацията между солубилизираният холестерол и солубилизираните (МГ+МК) е представена на Фиг. 3.15. Наклонът на правата позволява да се оцени съотношението между Ch и (МГ+МК) в смесените мицели.

Въпроси:

- Какъв е физическият смисъл на отреза на правата? Може ли от него да се оцени съотношението Ch/ЖК в отсъствие на (МГ+МК)?

- Как влияе изменението на състава на смесените мицели на колоидхимичните характеристики на системата при изменение на концентрацията на Ca^{++} ? *In vivo* размерът и електричните свойства на частиците са съществени за проницаемостта им през мукусната мембрана.

- Едно съпоставяне на резултатите от Фиг. 3.13 и 3.16 поставя въпроса, защо намереният на Фиг. 3.13 ефект при ненаситените МГ не води на Фиг. 3.16 до по-добра корелация в сравнение с резултата за наситените МГ?

Глава 4 представя изследването на ефекта на сапонинови екстракти от *Quillaja Saponaria* (QD) върху солубилизацията на Ch и МК в пермеата. Най-важният резултат тук е, че QD екстрактът (QDE) намалява значително солубилизацията на Ch в малките смесени мицели, които биха могли да преминават през мукусната мембрана. Установено е, че активният компонент в QDE са полифенолите. В Глава 5 се изследва ефекта на 6 сапонинови екстракта върху солубилизацията на Ch и МК. Значителни ефекти се наблюдават с два от тях – *Quillaja Dry* (QD) и *Sapindin* (SAP). Установено е добро полу-количествено съвпадение между биодостъпността на Ch *in vitro* и хипохолестеролемията *in vivo*.

Ще формулирам и една по-обща оценка на идеите и резултатите представени в дисертацията, както и някои препоръки. Солюбилизацията на Ch в храносмилателния тракт протича в една много сложна среда, населена с голям брой различни химични индивиди в сложни взаимодействия помежду им, зависещи от физичната организация на средата. Въпреки тази реалност е възможно да се реализират моделни изследвания в голяма степен представителни за събитията *in vivo*. Развитият и използван в дисертацията модел в условия близки до тези в стомашно-чревния тракт е добър пример за това. С негова помощ са получени интересни резултати в добро съответствие с изследвания *in vivo* и тези от моделни системи с добър контрол върху химическия състав и колоидната организация на средата. Там, където се предлагат разумни представи за възможните молекулни механизми, допълнителна информация за това кой от тях е доминиращия, може да се получи от възможно най-прости и добре дефинирани системи. Ще приведа няколко примера за възможностите, които предоставят изследванията на монослойни моделни системи,

- Наблюдаваният ефект на ненаситените МГ върху солюбилизацията на Ch корелира с намереното по-лесно проникване на Ch в монослой от ненаситени глицериди, намиращ се в LE състояние.

- Още през 1937, пионерите на монослойно моделиране на физиологични ефекти Schulman и Rideal установяват изменения в състоянието на Ch монослой след инжектиране на хемолитичните агенти сапонин и дигитонин в течната подложка.

- По мое убеждение изследването на скоростта на солюбилизация и солюбилизационният капацитет в система - монослой от Ch върху водна подложка от ЖК и продукти на липолизата може да допринесе за разбиране на молекулния механизъм на изследваните ефекти.

- Интересни резултати могат да се получат и от моделната система – монослой от Ch върху водна подложка от сапонинови екстракти.

В заключение на краткия преглед на съдържанието на дисертацията, оценявам високо качеството на използваните подходи и получените нови и потвърдителни резултати с фундаментално и приложно значение. Описаната *in vitro* процедура е

например подходяща за изследване на биодостъпността на малко разтворими вещества и може да се използва за откриване на холестерол-понижаващи лекарствени агенти. Направените по-горе коментари трябва да се разбират по-скоро като препоръки за бъдещи изследвания, отколкото като критични бележки. Дисертационният труд е отлично оформен. Ще отбележа все пак някои неточности в представянето на резултатите. Избраният начин на свързване на експерименталните точки на всички графики, разбира се, не означава линейни зависимости на изследваните величини от измерване до измерване. Не са указани стойностите на Ca^{++} в зависимостите, представени на Фиг. 3.16, което затруднява разбирането им. Обикновено пледирам пред младите изследователи за уважение към установената българска научна терминология – напр. утайка вместо преципитат.

В основата на дисертационния труд са 2 отпечатани и 1 в подготовка публикации в централни списания. Резултатите от дисертацията са докладвани на 9 международни и 7 български конференции.

Авторефератът е направен съгласно изискванията и правилно отразява основните резултати и приноси на дисертационния труд.

В заключение, представената ми за рецензия дисертация напълно отговаря на изискванията на Закона за развитие на академичния състав в Република България (ЗРАСРБ), Правилника за приложението му и Правилника за условията и реда за придобиване на научни степени и заемане на академични длъжности в СУ „Св. Климент Охридски” Въз основа на всичко изложено до тук препоръчвам на уважаемото жури да присъди единодушно на г-жа Лилия Иванова Винарова образователната и научна степен „доктор”.

София,
05.05.2015 г.

проф. дхн Ив. Панайотов