

РЕЦЕНЗИЯ

По конкурс за заемане на академичната длъжност „доцент” обявен в ДВ бр.30 от 15.04.2022 г. по професионално направление 4.3. „Биологически науки”(Биохимия) за нуждите на Биологически факултет, Софийски университет „Св. Климент Охридски”

От проф. д.б.н. Диана Христова Петкова

Институт по биофизика и биомедицинско инженерство-БАН,член на Научно жури определено със заповед на Ректора РД-38-279/07.06.2022

На обявения конкурс за академичната длъжност „доцент“ към катедра „Биохимия“, Биологически факултет, СУ документи е подал само един кандидат, който е допуснат до конкурса, а именно гл.ас. д-р Кирилка Стефанова Младенова . Д-р Кирилка Младенова е родена през 1987 г. в г.София. През 2011г. завършва бакалавърска степен по Молекулярна биология, а през 2013 г. магистърска степен по Клетъчна биология и патология. От 2017 г. е доктор в направление 4.3 Биологически науки. Според приложената справка за покриване минималните изисквания на ЗРАС необходими за академичната длъжност „доцент“ кандидатката е представила данни , както следва: по показател А - 50 т., показател В- 104 т., показател Г -226 т. и по показател Д -62 т. , което показва , че покрива напълно изискванията за тази академична длъжност, както и Правилника за неговото приложение в Биологически факултет при СУ „Св.Климент Охридски”

Научните трудове , с които д-р Кирилка Младенова кандидатства в конкурса са :16 статии с ИФ, с общ ИФ 40.383 и една глава от книга. Приложени са редица участия в конференции. Трудовете на кандидатката са цитирани до сега 37 пъти в световната научна литература.

Д-р Младенова е била ръководител на 2 договора към СУ и участник в редица договори към СУ, ФНИ и към Европейския социален фонд. Под нейно ръководство са защитени успешно две дипломни работи към катедра „Биохимия”. Преподавателската дейност на кандидатката възлиза над 1000 учебни часа годишно. Тя включва основно упражнения по Биохимия в няколко факултета към Софийски университет – Биологически, Химия и фармация, Физически факултет. Д-р Младенова провежда и лекционни курсове по Биохимия

на студенти от специалностите Агробиотехнологии и Биология към Биологически факултет. От тези данни може да се заключи, че учебната натовареност на година на д-р Младенова надвишава необходимите часове изискуеми за научната длъжност „доцент”.

Основните научни направления, в които работи д-р Младенова са в областта на биохимията, биокатализата, биофизикохимията, молекулярната и клетъчна биология. Основните ѝ научни приноси са свързани с изучаване на молекулните основи на социално значими патологии на ретината.

Главните насоки в изследванията ѝ са свързани с: физикохимичното охарактеризиране на трансмембрания белтък бестрофин-1 (hBest1); охарактеризиране на биологичните свойства на наночастици, както и изследване механизма на действие при някои биологично активни вещества върху клетъчни линии.

1. Първата група изследвания свързани с изучаване на свойствата и поведението на човешкия бестрофин-1 е основното направление на научната дейност на д-р Младенова, на което е посветена и докторската ѝ дисертация. За този белтък е известно, че е калциево зависим хлорен канал, който се експресира по базолатералната повърхност на ретиналният пигментен епител. Мутации в гена водят до развитие на патологични състояния, които са съпроводени с прогресивна загуба на зрение и засега са нелечими. Напоследък се предполага, че hBest1 има връзка с невродегенеративни заболявания (като болестите на Алцхаймер, Паркинсон, епилепсия и др.). Групата към, която работи кандидатката е успяла да получи клетъчна линия стабилно експресираща белтъка, което е помогнало за понататъшните изследвания на структурата и взаимодействията на белтъка с клетъчните мембрани.

Използвайки модела на Лангмюирови монослоеове са установени морфологията и някои физикохимични характеристики на чист hBest1 или смесени монослоеове hBest1/липид с/без участието на Ca^{2+} , Glu и GABA.

Анализирането на π/A изотермите, хистерезисни криви и модула на свиваемост са доказали, че прибавянето на Ca^{2+} , Glu и GABA в подложката при монослоеове от чист hBest1 води до промяна на площите на изотермите при едно и също повърхностно налягане. Най-голяма промяна в площта за молекулата е установено при наличие на Ca^{++} , а най-слабо от наличието на GABA. При

смесени монослоеве от белтък и ненаситения фосфолипид POPC се „маскира“ ефекта на Ca, Glu и GABA върху повърхностната динамика на смесени монослоеве и се наблюдава фазово разделение между белтъка и липида, което показва, че фосфолипидите могат да повлияят организацията и активността на белтъка в мембраната. При смесените hBest1/SM монослоеве добавянето на Ca²⁺, Glu и GABA води до промени на повърхностната конформация, структура, самоорганизация и повърхностна динамика на hBest1. При определяне на промяната в свободната енергия на Гибс на смесени монослоеве, е установено, че процесът е термодинамично изгоден и настъпва спонтанно смесване. Холестеролът и при двата вида смесени монослоя проявява своя кондензиращ ефект. Блюстеръглова микроскопия е използвана за да се характеризира морфологията на чисти и смесени монослоеве от белтъка с Ca²⁺, Glu и GABA.

Доказано е, че филмите на hBest1 и hBest1GABA са хомогенни, докато тези на hBest1Ca и hBest1Glu съдържат кондензирана и газова фаза в различно съотношение спрямо приложеното повърхностно налягане. За първи път в света беше установена морфологията на молекули hBest1 чрез атомносилова микроскопия, приложена върху Лангмюирблуджетови филми. Доказани са размерите на чистия белтък - латерални размери около 100×160 Å и височина около ~ 75 Å, както и формиране на димерни структури в присъствие на Ca²⁺ йони с размери ~200 × 670 Å и височина 220 Å и тримерни структури с размери 200 × 990 Å, височина 220 Å.

Изследвано е влиянието на експресията на hBest1 в клетки и е доказано, че не се променя морфологията, скоростта на растежа и митотичния им индекс. Установено е, че белтъка се разпределя преимуществено в течно-неподредената фаза на клетъчната мембрана и неговата експресия води до промяна на физикохимичните характеристики на мембраните в посока на увеличение на течно-неподредените мембранни домени. Наблюдавана е промяна в клетъчната поляризация при трансфектирани с бестрофин клетъчни линии.

2. Друга част на изследванията на д-р Малденова са посветени на наночастиците като носители на биологичноактивни вещества. Създаването на носители на фармацевтици, гени и ДНК молекули, които са биосъвместими, разградими и нетоксични е от съществено значение за третиране на различни патологии. Д-р

Младенова е изследвала цитотоксичността, механизма на включване на наночастиците в клетките, както и тяхната стабилност в клетките. Проучени са няколко вида наночастици. За наночастиците от полиетиленимин е установено, че пътищата на навлизане в клетките и ефективността на доставка на интактна и функционално активна ДНК молекула зависят от топологията и формата на полимерната верига като полиплексите с по-плътна структура са „обещаващи“ системи за генна трансфекция в еукариотни клетки.

За наночастици, базирани на диблоков кополимер от poly(ethylene glycol) methacrylate (POEGMA) and poly(L-lysine) и плазмидна ДНК е доказано, че се включват в клетката директно през плазмената мембрана, а не по ендозомален път и могат да освободят интактен и функционално активен плазмид.

Проучването на наночастиците от триблоков кополимер от poly(2-(dimethylamino) ethyl methacrylate) – block-poly (ϵ -caprolactone) – block – poly(2-(dimethylamino) ethyl methacrylate), съдържащи ДНК доказва, че цитотоксичността им зависи от тяхната структура. За конюгати между ДНК и синтетичен полимер е доказано, че са биосъвместими, нетоксични, лесно се усвояват от клетките и са стабилни при наличие на нуклеази.

3. Изследвани са секреторни ензими, изолирани и пречистени от змийска отрова на *Vipera ammodytes meridionalis*. Основният токсичен компонент випоксина е хетеродимер съставен от секреторна фосфолипаза А2 и неензимна субединица. Доказано е, че тези две субединици имат различна фармакологична активност върху клетъчни линии. Фосфолипазата предизвиква цитотоксичност, повлиява структурата на цитоскелета и води до възникване на ранна апоптоза. Випоксинът и неензимната субединица проявяват висока степен на генотоксичност, докато увреждането на ДНК, предизвикано от PLA2 субединица, може да се определи като умерено и не е свързано с нейната каталитична активност. Тези резултати са обещаващи за използването им като противоракови агенти.
4. Част от изследванията са насочени към проучване на растителни екстракти за използването при различни патологични състояния. За екстракти от *Haberlea rhodopensis*, което е лечебно растение, ендемично за Балканския полуостров е доказано, че получените екстракти влияят върху клетъчната периферия, пропускливостта на мембраната и водят до нарушаване на плътните контакти на

кератиноцитите, което ги прави успешни за комплексно лечение на патологични дерматологични състояния.

Екстрактите от *Lamium album L.* са известни с терапевтичните си действия и се използват в народната медицина. Получените екстракти с два различни разтворителя са доказали, че не зависимо от използвания разтворител се променят клетъчната полярност и актиновите нишки и блокират клетъчната поляризация. Тези екстракти повлияват силно пропускливостта на клетъчната мембрана, свойствата на клетъчна адхезия и морфологията на ракови клетки, което ги прави обещаващи противоракови средства.

Изследванията на д-р Кирилка Младенова са системно насочени към изясняване структурата и поведението на белтъка hBest1 причинител на значими социални патологии. Тези изследвания тя е започнала още при разработване на своята докторска дисертация. Получени са значителни резултати за локализацията на белтъка в клетката и значението на структурните елементи на клетъчните мембрани за локализацията му и неговата активност. За отбелязване са и изследванията върху наноструктури носители на различни агенти, които могат да се използват като фармацевтици при различни видове патологии.

Освен преподавателска и научна дейност д-р Младенова има и някои административни задължения като член на Мандатна комисия и член на Факултетния съвет на Биологически факултет.

Считам, че са спазени всички изисквания на Закона за развитие на академичния състав в Република България при обявения конкурс.

Заключение: Гл.ас. д-р Кирилка Младенова е представила за конкурса научна продукция и цитирания, които отговарят на изискванията на ЗРАСРБ за академичната длъжност „доцент“. Преподавателската ѝ натовареност също изпълнява изискванията за тази длъжност. Научните ѝ приноси имат оригинален характер. За пръв път е демонстрирана молекулната организация на белтъка hBest1 и значението на структурата на мембранния бислой за активността на белтъка. Получените резултати са намерили широк отзвук сред световната научна общност. Всичко това ми дава основания убедено да препоръчам на членовете на уважаемото Научно жури и на Факултетния съвет на Биологически факултет към СУ“Св. Климент Охридски“ гл.ас. д-р Кирилка Младенова да бъде избрана за

административната и академична длъжност ДОЦЕНТ по шифър 4.3
Биологични науки (Биохимия) за нуждите на Биологически факултет ,
СУ „Св. Климент Охридски“.

4.08.2022 г.

Рецензент:

/ проф. Диана Петкова/