

С Т А Н О В И Щ Е

От доц. д-р Йордан Думанов – катедра “Биохимия” при Биологически факултет на СУ „Св. Климент Охридски”

относно дисертационния труд на асистент Кирилка Стефанова Младенова на тема: *„Изследване на взаимодействието на белтъка бестрофин-1 с моделни мембранни структури и поведението му в еукариотни клетки”*

Дисертационният труд на ас. Кирилка Младенова е посветен на проучвания, свързани с трансмембрания йонен канал бестрофин-1 (hBest1).

Мутации в гена *BEST1*, отговорен за синтеза на белтъка hBest1, причиняват различни макулни дегенерации, към които се отнася и Болестта на Бест (Best Vitelliform Macular Dystrophy, BVMD) – автозомно доминантно наследствено заболяване, засягащо централното зрение при човек. Тя се проявява като увреждане на ретиналния пигментен епител и е втората най-разпространена форма на наследствена макулна дегенерация в младежка възраст, като е все още нелечима и това определя актуалността на проблема в научен и социален аспект.

hBest1 се експресира предимно в клетките на ретиналния пигментен епител (РПЕ), макар че има данни за неговата експресия и в астроцити, глиални клетки и неврони от централна нервна система. По литературни данни hBest1 участва в Ca^{2+} -зависим транспорт на Cl^- през клетъчната мембрана, на HCO_3^- , на γ -аминобутирилова киселина (GABA), глутамат и др.

Структурата и функцията на белтъка са все още дискуссионни, поради което изследванията в дисертационния труд са насочени към проучване на вторичната структура на hBest1 и неговите повърхностни характеристики при вграждане в моделни мембрани, с участието на Ca^{2+} , Glu и GABA. Фокусирането именно върху тези агенти е следствие от факта, че hBest1 е калциево-зависим канал и възможността преминаването през него на сравнително големите молекули Glu и GABA да предизвика конформационни промени, каквито са характерни за преносителите на някои от невротрансмитерите.

Все още не е напълно изяснена и ролята на hBest1 в еукариотните клетки тъй като РПЕ губят експресията му при култивиране, което затруднява неговото изучаване. Акцентът в изследванията на К. Младенова с култивирани РПЕ клетки е с цел установяване на влиянието на белтъка hBest1 върху жизнения цикъл и метаболизма на ретинални пигментни клетки, свързано с мембранната му локализация и клетъчната поляризация, в естествената му физиологична среда на експресия.

Тематика на дисертационния труд е свързана с разрешаване на съществени и все още неизяснени въпроси по отношение на hBest1 от областта на съвременната биохимия, физикохимия и клетъчна биология. Проведеното интердисциплинарно изследване е важно и за медицината, поради отношението си към заболявания, които понижават качеството на живот на засегнатите индивиди. Това ми дава основание да определя дисертационния труд като важен, както за фундаменталната наука, така и за клиничната практика.

Дисертацията е добре балансирана, написана по стандартната схема с общ обем от 105 страници, като най-обемната част е глава „Резултати и дискусия“ (39 стр.). Онагледена е с 41 фигури, като е използвана литературна справка от 209 източника. Литературният обзор е изчерпателен и задълбочен, подкрепен с подходящ илюстративен материал. Методите са съвременни, адекватни на поставените цели и са подчертано интердисциплинарни. Целите и задачите са точно формулирани, а получените оригинални резултати са представени и дискутирани ясно и обстойно в светлината на съществуващата литература.

Резултатите биха могли да се разделят в две големи групи: свързани с изследване на структурата и повърхностните характеристики на hBest1 и с влиянието на експресията на канала върху ретинални пигментни клетки. За първи път е пречистен hBest1 и са установени основните вторични структурни елементи на трансмембрания белтък, като е показана неговата морфология и размери чрез Брюстер-ъглова и атомно-силова микроскопия и техните зависимости от съдържанието на Ca^{2+} , Glu и GABA. Показани са повърхностните свойства и взаимодействия на hBest1 и РОРС и ролята на тези взаимодействия върху промяната на морфологията и увеличаването на размерите на канала. Втората група изследвания показват, че hBest1 изпълнява и различни от вече известните каналните функции, а именно понижава пролиферацията и променя морфологията на ретиналните

пигментни клетки. Осъществяването на тази група експерименти е станала възможна след създаването от докторантката на нова клетъчна линия с ретинален произход, стабилно експресираща hBest1. Част от резултатите в дисертационния труд са важни за изясняване на структурата и функцията на hBest1 като трансмембранен канал. Познаването на връзката структура-функция би подпомогнало откриването на терапевтични средства за възстановяване на нативната форма и функционалната активност на Best1, с цел терапия при мутации на гена в засегнатите индивиди.

От получените резултати са формулирани осем извода и четири оригинални приноса, с които съм напълно съгласен. Резултатите от изследванията са публикувани в две международни списания с импакт-фактор (общ IF 4,909) и в едно българско научно издание и са докладвани на три научни форума, като навсякъде в публикациите докторантката е първи автор. За една от статиите са забелязани цитирания в глава от книга и в дисертационен труд.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ: ас. Кирилка Стефанова Младенова е преподавател в Катедрата по Биохимия и служебните ни контакти датират от преди четири години, когато тя се присъедини към нашата изследователска група за изработване на дипломната си работа под моето научно ръководство. Представената ми за становище дисертация потвърждава високите професионални умения и компетентност на Кирилка, способността ѝ задълбочено да анализира и решава научни задачи, да използва и интегрира получените резултати в различни области на съвременната наука.

Професионалните качества и наукометричните показатели на Кирилка Младенова, които надхвърлят препоръките на Биологически факултет при СУ "Св. Климент Охридски", ми дават основание да изразя своето положително становище за представения дисертационен труд и убедено да предложа на Уважаемото Научно жури да присъди на ас. Кирилка Стефанова Младенова образователната и научна степен „Доктор“.

02.02.2017 г.

доц. д-р Йордан Думанов