

РЕЦЕНЗИЯ

на дисертация за придобиване на образователната и научна степен
„Доктор”

Автор на дисертационния труд: Мая Валериева Тановска

Професионално направление: 4.1. Физически науки

Докторска програма: Биофизика

Тема на дисертационното изследване: „Взаимодействие на липидни моделни системи с биологично важни молекули”.

Рецензент: доц. Геновева Антонова Златева, дф; Катедра по физика, биофизика и рентгенология, Медицински факултет на СУ “Св. Климент Охридски”

Рецензията е изготвена в съответствие с изискванията на Закона за развитие на академичния състав в Република България, Правилника за неговото прилагане и Правилник за условията и реда за придобиване на научни степени и заемане на академични длъжности в СУ „Св. Климент Охридски”, последна промяна от 19 октомври 2016 г. и Препоръчителни изисквания към кандидатите за придобиване на научните степени и заемане на академичните длъжности във Физическия факултет на СУ „Св. Климент Охридски“, приети от ФС на ФзФ на 13.12.2011 г.

Рецензирането на материалите е съгласно заповед на Ректора на СУ “Св. Климент Охридски” за назначаване на научното жури, № РД 38-68 /29.01.2019 г.

Мая Тановска е представила всички необходими документи, изисквани за процедурата за защитата на дисертацията.

I. ДАННИ ЗА КАНДИДАТА

Мая Тановска е придобила бакалавърска и магистърска степени по медицинска физика във Физическия факултет на СУ „Св. Климент Охридски“, съответно през 2012 и 2013 г. Била е редовен докторант във Физическия факултет по ПН 4.1 Физически науки, докторска програма „Биофизика“ в периода от 15.01.2015 г. до 15.01.2018 г. От 2013 досега е участвала в редица обучения, свързани с професионалната ѝ квалификация и докторантура, което говори за стремежа на дисертанта към непрекъснато и продължаващо усъвършенстване в областта на професионалните ѝ интереси.

II. ОБЩА ХАРАКТЕРИСТИКА НА ДИСЕРТАЦИОННИЯ ТРУД

Предоставената ми за рецензия дисертация включва Въведение; I Обзорна част, съдържаща Глава 1: „Обзор на научната литература“ – 57 стр.; Цел и задачи на изследването като част от тази първа глава; II Специална част, състояща се от две глави: Глава 2: „Материали и методи“ – 18 стр.; Резултати и обсъждане – 13 стр.; Заключение; Изводи; Приноси на дисертационния труд; Списък на публикациите, включени в дисертацията; Благодарности и Литература. Дисертацията е в обем от 109

стр. Илюстрирана е с 57 фигури и 3 таблици. Броят на литературните източници обхваща 215 заглавия, от които издадени след 2010 г. са около 20% от всички заглавия.

III. ОЦЕНКА НА СЪДЪРЖАНИЕТО НА ДИСЕРТАЦИОННИЯ ТРУД

Актуалност на темата

Мозаечният моделът на Сингър и Никълсън от 1972 г. за устройството на биомембраните десетилетия наред се смяташе за най-съвременния модел на биологичните мембрани. Изключително активните научни изследвания в тази област, обаче, доведоха до огромен брой експериментални резултати, нови концепции и хипотези, които съществено допълват и разширяват оригиналния модел, без да разрушават неговите основи. Сред най-важните от тях са: установяването на много по-високата от тази в модела плътност на мембранните белтъци; наличието на кривини на мембраните, като кривината им зависи от геометрията и механичните свойства на липиди и протеини; съществуването на континуум от протеини с различна степен и продължителност на свързване с мембраните; наличието на други, освен течнокристалните ламеларни липидни фази с физиологично значение – течноподредени, кубични и други; отклонения от равновесието: неламеларни структури – при определени обстоятелства една малка област от клетъчна мембрана може временно да приеме не-двуслойна архитектура; странична хетерогенност на мембраните – бислой, образуван от хетерогенни "домени", обогатени с някои липиди и протеини, които им осигуряват характерни функционални свойства; flip-flop при ограничени пространствени и времеви условия.

Като част от тези нови данни за структурата и функциите на биологичните мембрани, важна роля играе именно холестеролът и неговото пространствено разположение и взаимодействия с другите компоненти на мембраната. Целта на дисертационния труд е изследване взаимодействието на конкретни липидни моделни системи с холестерол, повлияващо фазовото състояние на мембраните, и еруфозин – антитуморен агент, чието действие е мембранно ориентиран. Използваните са неинвазивни методи – елипсометрията, електрохимичната импедансна спектроскопия и атомно-силова спектроскопия. В контекста на гореказаното, смятам, че подобни изследвания са актуални в областта на мембранологията.

Теоретични основи

В Общата част на дисертационния труд е направен обзор на научната литература, касаеща проведените изследвания. Описани са експериментално получени резултати и концепции в литературата относно еволюцията на мембранните модели и ролята на холестерола за фазовото поведение, структурата и функциите на биологичните мембрани. Следва описание на алкилфосфолипидните препарати за антитуморна терапия с мембранно ориентиране, в което обаче недостатъчно ясно е изразен механизмът на антинеопластичното действие на еруфозина.

Описани са и физичните основи и възможности на използваните методи за изследване: елипсометрия, електрохимична импедансна спектроскопия и атомно-

силова спектроскопия. Недостатъчно ясно са формулирани принципите на елипсометрията и значението на конкретните измервани параметри Ψ и Δ .

IV. ЦЕЛ И ЗАДАЧИ НА ДИСЕРТАЦИОННОТО ИЗСЛЕДВАНЕ

Целта и задачите на дисертационното изследване са представени в Глава 1. Целта е формулирана общо, но предвид обзора на научната литература става сравнително ясна. Задачите, обаче, не са достатъчно ясно формулирани.

IV. РЕЗУЛТАТИ ОТ ПРОВЕДЕНИТЕ ИЗСЛЕДВАНИЯ И АНАЛИЗИ

3.1. Импедансно изследване на филми от чист лецитин при различна температура.

Представени са резултати във вид на Найкуист диаграми от проведените изследвания за тънки филми от чист лецитин при различни температури. От получените данни е направен извод за температурата на фазов преход на използваните липиди по максималната стойност на активното съпротивление на филма от температурата.

3.2. Импедансно изследване на лецитинови филми, съдържащи холестерол

Резултатите от това изследване потвърждават уплътняващ ефект на холестерола в липидния филм, тъй като импедансът нараства с нарастване на концентрацията на холестерол. На базата на получените Найкуист диаграми и зависимостите на реалната и имагинерна части на импеданса от честотата на приложеното напрежение (Боде диаграми), е предложен еквивалентен електричен модел на изследвания филм – независещ от честотата RC-кръг и елемент с постоянна фаза (CPE), като са пресметнати съответните електрични параметри при различните концентрации на холестерол.

От зависимостта на параметрите на CPE от холестеролната концентрация е направен изводът, че изследваните филми са съставени от две подобласти, зависещи по различен начин от холестеролното съдържание, с различна подредба: плътно опаковани, със силно ограничена подвижност, поради силните адхезионни взаимодействия с твърдата фаза, молекули в контакт с метала на електрода и напълно хаотично разположени липиди при прехода към обемната течна фаза между бислоевите. Изводът се потвърждава от сравнение на получените резултати с тези за температурната зависимост от раздел 3.1.

От допълнително представени експерименти, проведени за една холестеролна концентрация при различни температури, е направен извод, че в широк диапазон на температурата, поради уплътняващия ефект на холестерола, видът на Найкуист диаграмите е подобен на този за ниски температури на чисти лецитинови филми, което, от своя страна показва, че при тези условия филът се намира в твърта – гел фаза.

3.3. Елипсометрично изследване на взаимодействието на лецитин и холестерол

Представени са резултати от елипсометрични измервания за дебелината на липидния филм от холестерол и лецитин при неговото отлагане. Неясна дискусия.

3.4. Елипсометрично изследване влиянието на антитуморния агент – еруфозин върху липидна моделна система.

Получените са резултати за спектралните характеристики на елипсометричните параметри са върху моделни филми на лецитин, сфингомиелин и 60 %, 30 % и 10% съотношения на холестерола при различни концентрации на еруфозин.

Експерименталните данни на спектралната елипсометрия показват реорганизация на липидния слой. Дебелината на слоя се увеличава с увеличаване процентното съдържание на холестерола. Добавянето на антитуморно средство в системата води до растеж на слоя до 60 μM еруфозин.

Резултатите са потвърдени и с атомно-силлова микроскопия.

V. ОЦЕНКА НА ПРИНОСИТЕ

Приносите в представения ми за рецензия дисертационен труд са:

1. За първи път е наблюдаван фазов преход от гел към течно-кристална фаза за лецитинов филм чрез импедансна спектроскопия при 9,4 ° C.
2. В широк температурен диапазон са изследвани холестерол-съдържащите филми. Потвърждава се чрез импедансни изследвания уплътняващият ефект на холестерола, а следователно и предложената хипотеза.
3. Изследването на кинетиката на адсорбция на лецитинов филм показва, че дебелината на филма не се променя с времето след първоначалното омокряне.
4. Показано е, че дебелината на липидния филм съвпада с началната стойност на образувания липид/холестеролен филм.
5. За първи път се изследва влиянието на противотуморния агент еруфозин върху липидната моделна система – холестерол/сфингомиелин/ фосфотидилхолин. Влиянието на холестерола върху липидната моделна система показва увеличаване на дебелината на слоя с нарастване на концентрацията му.
6. Влиянието на противотуморния агент еруфозин върху изследваната липидна моделна система води до допълнително нарастване дебелината на слоя.

Може да се каже, че получените резултати в конкретните моделни системи са принос към изследванията в тази област.

VI. ОЦЕНКА НА ПУБЛИКАЦИИТЕ, СВЪРЗАНИ С ДИСЕРТАЦИОННИЯ ТРУД

Докторантката представя 3 публикации в реферирани списания и 8 участия в научни форуми, свързани с темата на дисертацията. Забелязани са две цитирания на публикациите, свързани с дисертационния труд.

Извън темата на дисертацията, Мая Тановска е представила и списък с още три публикации (не е указано в кои списания са подадени за печат статиите).

Дисертантката е участвала в проект от плана за сътрудничество на Р България с ОИЯИ, Дубна, Русия за 2016 год. на тема: „Влияние на радиационното въздействие върху мембранни белтъци“; проекти ЕС ERASMUS MUNDUS: NANOPHI и FNI, DN

11/1/2017, както и като участник в проект по Оперативна програма „Развитие на човешките ресурси“ за подкрепа на докторанти, съфинансирана от ЕСФ и ЕК BG051PO 001-3.3.06-0057.

Дисертантката покрива необходимите за придобиване на ОНС „доктор“ изисквания, съгласно Правилника за прилагане на ЗРАСРБ и Препоръчителните критерии на Физическия факултет на СУ „Св. Климент Охридски“.

VII. СЪОТВЕТСТВИЕ НА АВТОРЕФЕРАТА С ДИСЕРТАЦИОННИЯ ТРУД

Структурата на авторефера отговаря на изискванията и отразява резултатите от дисертационния труд.

VIII. КРИТИЧНИ БЕЛЕЖКИ, ВЪПРОСИ И ПРЕПОРЪКИ

Критични бележки и препоръки

1. Има несъответствие между обема на обзора на научната литература и резултатите и обсъждането, което смятам, че е прието да е приблизително 1:1.
2. Има пълни или смислови повторения в дисертацията. Напр. един и същ абзац се среща на стр. 7 и стр. 26 (различен е само номерът на цитата). Последният абзац на стр. 26 има един и същ смисъл с първия абзац на стр. 40, които, обаче звучи като лош превод от английски.
3. Повторенията и разбърканото изложение в някои части на обзора като смисъл и причинно-следствена връзка (напр. от 26 стр. до 30 стр. – според мен вече споменато по-напред), затруднява изключително много читателя на дисертацията.
4. Има достатъчно литературни източници по темата след 2010 г., които биха могли да се използват в литературния обзор и за дискусия на резултатите.
5. Има несъответствия на цитираната литература и смисъла на текста – напр. цитираният източник [115] на стр. 43.
6. Има доста необработени текстове: „Статията ни демонстрира гъвкавостта на метода в количественото охарактеризиране на структурните и функционалните свойства на поддържаните фосфолипидни мембрани“; „като комбинира големи измервания с висока вертикална разделителна способност без използване на етикетиранли липиди“ ; „Приложенията, представени в тази статия...“ – стр. 44. „Споразумението с предишни проучвания потвърждава, че елипсометрията предоставя прост и удобен инструмент за рутинно, количествено характеризирани на тези свойства на мембраната.“ – стр. 45.
7. Задачите на дисертацията са не достатъчно ясно формулирани.
8. Не е подходящо описание на експериментален метод във вида: „Процедурата в нашия случай е следната: накапваме 20 μ l различна моларна концентрация на холестерол, съответно върху повърхностите (Au) въртим с spin – coating – Program 4 (1 step), edit mode→step 001/001; vac req / Time 00:40:00; cpm 00; Rpm + 03000; Loop 000; Acel 00500; Go to 001.“

9. В текста на дисертацията има голям брой разминавания по отношение на съкращения на кирилица и латиница; съкращения, за които няма обяснения и т.н.
10. Цитираната литература не е уеднаквена по библиографско описание и липсват важни части от това описание за някои източници – година на публикуване, списание и т.н. (напр. №№ 99, 114, 116, 150, 203)

В заключение: дисертационният труд би могъл да се подреди в една оптимална и логическа последователност, макар и не в такъв обем, но в по-подходяща за читателя форма, както и да бъде по-прецизно оформен.

Препоръки: Дисертантката трябва да положи усилия в бъдеще за по-добро оформяне и прецизиране на научните си резултати, дискусия, изводи и научна обосновка.

Имам следните въпроси към докторанта:

1. Каква е разликата между фигури 54 и 55 и как се обясняват резултатите?
2. Може ли да коментирате мерните единици и стойности в Таблица 3 – концентрацията на еруфозин в мили- или микромола е; стойността на дължината на вълната?
3. С какво си обяснявате увеличаването на дебелината на слоя лецитин-сфингомиелин и холестерол с повишаване на концентрацията на еруфозин и защо не нараства над 60 μmol ?
4. Каква е ролята концентрацията на водата, погълната от филма и как това повлиява резултатите и организацията на липидите?

IX. ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Въпреки посочените неточности и пропуски, представеният дисертационен труд съдържа оригинално аналитично изследване и показва, че са постигнати целта и поставените задачи. Докторантът познава проблема и има необходимите знания и умения за самостоятелна научна работа, поради което давам положителна оценка на работата и предлагам на Почитаемото научно жури да гласува за присъждане на ОНС „Доктор” по професионално направление 4.1, Физически науки (Биофизика) на на Мая Валериева Тановска.

27.05.2019 г.

Подпис:.....
(доц. Геноева Златева, дф)