

Вх. № 976 АСП / 07.09.2023

## Становище

**от член на научно жури:** Албена Георгиева Йорданова, професор по биохимия в Медицински факултет на Софийски университет „Св. Климент Охридски“, назначена за член на научното жури със заповед 605/10.08.2023 г. на директора на Института по биофизика и биомедицинско инженерство, БАН

**за дисертационен труд** за придобиване на образователната и научна степен “Доктор”, Област на висше образование: 4. "Природни науки, математика и информатика"; Професионално направление: 4.3. "Биологически науки"; Научна специалност "Биофизика"

**Автор на дисертационния труд:** Весела Василева Йорданова

**Тема на дисертационния труд:** Мембранна реорганизация при оксидативен стрес: ефект на окислените липиди

**Научен консултант:** проф. Галя Станева, ИБФБМИ-БАН

В представения ми за становище дисертационен труд на докторанта на самостоятелна подготовка Весела Василева Йорданова на тема *“Мембранна реорганизация при оксидативен стрес: ефект на окислените липиди“* са анализирани ефектите на степента на ненаситеност на мастната киселина в *sn-2* позиция във фосфолипидните молекули 1-палмитоил-2-олеоил-*sn*-глицеро-3-фосфохолин/POPC (OA, 18:1) и 1-палмитоил-2-докозахексаеноил-*sn*-глицеро-3-фосфохолин/PDPC (DHA, 22:6  $\omega$ -3). В допълнение са изследвани окислително модифицираните продукти 1-палмитоил-2-(5'-оксо-валероил)-*sn*-глицеро-3-фосфатидилхолин/POVPC и 1-палмитоил-2-глутарил-*sn*-глицеро-3-фосфатидилхолин/PGPC на съдържащия в молекулата си арахидонова киселина 1-палмитоил-2-арахидонил-*sn*-глицеро-3-фосфохолин/PAPC върху мембранната структурна организация и активността на секреторна фосфолипаза  $A_2/sPLA_2$  в биомиметични системи, моделиращи различни фазови състояния.

Дисертационният труд съдържа 151 страници и е онагледен с 64 фигури, повечето от които съдържат по няколко панела. Цитирани са 417 литературни източници, като най-новите цитати са от 2021 година, което е и една от главните ми забележки по отношение на дисертацията. Експерименталната работа е извършена в лабораториите на секции "Липид-белтъчни взаимодействия" и "Фотовъзбудими мембрани" в Института по биофизика и биомедицинско инженерство, БАН.

В *Литературния обзор* на дисертационния труд задълбочено са описани структурата и свойствата на биологичните мембрани, структурното разнообразие и фазовото поведение на мембранните липиди, липидните рафтове, ролята на полиненаситените мастни киселини и омега-3 мастните киселини в тях. Подробно са описани съвременни моделни мембранни системи, използвани за изследване и анализ на биологичните мембрани в *in vitro* условия, както и ролята и въздействието на оксидативния стрес, фосфолипазните ензимни системи, както и някои секреторни изоформи на фосфолипаза A<sub>2</sub>, синтезирани от различни видове, върху морфологията, фазовото състояние и латералната мембранна организация.

В раздела *Цел и задачи* ясно е формулирана поставената цел: да се изследва влиянието на биологично активни окислени липиди върху мембранната латерална организация и активността на sPLA<sub>2</sub> в моделни системи с различна степен на ненаситеност на мастните киселини при *sn-2* позиция, както и конкретните седем основни задачи за нейното осъществяване. Използваните материали и съвременни методи за експерименталните изследвания са описани и протоколирани ясно, точно и подробно.

Получените от дисертантката *Резултати и дискусия* са представени на 54 страници. В три основни раздела са показани резултатите, получени при изследване на влиянието на окислените липиди POVPC и PGPC и степента на ненаситеност на мастната киселина при *sn-2* позиция в молекулата на PC върху:

- формирането и размера на рафт домените при физиологична температура, чрез DPH-ТЕМРО флуоресцентна спектроскопия. Получените резултати показват ефекта на степента на ненаситеност на мастните киселини в молекулата на глицерофосфолипидите POPC и PDPC върху формирането и размерите на рафт домени в POPC/Chol и POPC/SM/Chol дву- и трикомпонентни смеси;
- степента на подреденост на липидите в липидния бислой чрез Лаурдан флуоресцентна спектроскопия. Изследвано е въздействието на степента на ненаситеност на мастните киселини в глицерофосфолипидите POPC и PDPC върху степента на подреденост на липидите в моделните мембрани. Получените резултати демонстрират ефекта на окислените липиди POVPC и PGPC върху еднокомпонентни POPC и PDPC везикули и върху холестерол-съдържащи PC везикули. Изследвана е промяната в степента на подреденост в двуконпонентните SM/Chol везикули (модел на клетъчни рафтове) при повишаване на температурата, както и въздействието на окислените липиди POVPC и PGPC (в концентрации 10 и 30 mol %) върху фазовото състояние на мембраните. В допълнение, са изследвани и



трикомпонентни липидни смеси POPC/SM/Chol и PDPC/SM/Chol в различни съотношения в присъствие и отсъствие на окислените липиди POVPC и PGPC, като са подбрани липидни съотношения между SM и Chol, съответстващи на състава им в клетъчните рафт домени;

- степента на подреденост на липидите в липидния бислой чрез Лаурдан флуоресцентна спектроскопия, като е изследван ефектът на степента на ненаситеност на мастните киселини в молекулата на глицерофосфолипидите POPC и PDPC, както и на присъствието на окислените липиди POVPC и PGPC, върху активността на sPLA<sub>2</sub>. В допълнение е анализирано и въздействието на холестерола върху активността на sPLA<sub>2</sub> в зависимост от степента на ненаситеност на мастните киселини в POPC и PDPC, както и активността на sPLA<sub>2</sub> в PC/SM/Chol смеси в отсъствие и в присъствие на окислените липиди POVPC и PGPC.

Изводите от проведените разнообразни и високоинформативни експерименти са формулирани ясно и точно в 9 основни направления, като са описани и три научни приноса при реализирането на дисертационния труд. Резултатите от дисертационния труд са публикувани в 3 научни статии в периода 2020-2023 г. - в научни списания с Q1, Q2 и Q3, с общ импакт фактор 5.943, като дисертантката е първи автор и в трите публикации. Резултатите са докладвани на 8 национални и международни научни форума (с 6 постера и два доклада) в периода 2018-2022 г., като Весела Йорданова е първи автор във всички участия, което е доказателство за водещата ѝ роля при осъществяването на експериментите в дисертационния труд.

Представеният автореферат на дисертационния труд на Весела Йорданова напълно отговаря на съдържанието на дисертационния труд, като дава отлична информация за извършената експериментална работа, получените резултати и направените изводи и приноси.

Имам следните забележки и въпроси към дисертантката:

1. На стр. 17 е написано, че „холестерола се синтезира в ендоплазмения ретикулум“, но всъщност началните етапи в синтезата му са в цитозола и превръщането на ланостерол до холестерол е локализиран в ендоплазмения ретикулум.
2. Според мен по-ясно за разбиране би било използването не на молните съотношения в дву- и трикомпонентните смеси, напр. не 100:50:50, 100:100:50 и 100:100:100 mol/mol), а директно 1:0.5:0.5, 1:1:0.5 и 1:1:1 (както е упоменато на стр. 111).

3. Известна ли е ролята и механизмът на действие на различните изоформи на цитозолната и секреторната фосфолипаза  $A_2$  в процеса апоптоза?
4. В множество публикации напоследък се съобщава за свръхекспресия на гена, кодиращ цитозолната фосфолипаза  $A_2$  при пациенти с различни ракови заболявания: рак на гърдата, хепатоцелуларен карцином, рак шийката на матката, простатата и белия дроб. Има ли и прилага ли се терапевтичен подход за лечение на тези ракови заболявания, чрез инхибитори на  $PLA_2$ ?
5. Предвиждате ли допълнителни изследвания на мембранни фосфолипиди с различна геометрия с цел установяване на ефекта на степента на ненаситеност на мастната киселина върху мембранната латерална организация, морфология и фазово състояние?

От извършената научно-изследователска работа, представеният дисертационен труд, автореферат, научни публикации и участия на национални и международни конференции мога убедено да обобща, че Весела Йорданова е подготвен млад учен, който може да планира и провежда задълбочени научни изследвания, да анализира и обсъжда получените резултати, като и да ги съпоставя с публикувани научни статии. С представените публикации и участия в научни форуми тя отговаря на изискванията в Закона за развитие на академичния състав в Република България, Правилника за неговото прилагане и Правилника за развитието на академичния състав на Института по биофизика и биомедицинско инженерство, БАН

**Всичко това ми дава основание да препоръчам на уважаемите членове на Научното жури да гласуват положително за присъждане на образователната и научна степен “Доктор” на дисертантката Весела Василева Йорданова в Област на висше образование: 4. "Природни науки, математика и информатика", Професионално направление 4.3. "Биологически науки", Научна специалност "Биофизика".**

София

06.09.2023 год.

**Автор на становището:**

(проф. д-р Албена Йорданова)