

РЕЦЕНЗИЯ

На дисертационен труд за придобиване на научната и образователна степен „доктор“ в професионално направление „4.3. Биологически науки“, Докторска програма Биофизика

на Весела Василева Йорданова, докторант на самостоятелна подготовка към Секция "Липид-белтъчни взаимодействия" в Институт по биофизика и биомедицинско инженерство към Българска Академия на Науките на тема:

**„МЕМБРАННА РЕОРГАНИЗАЦИЯ ПРИ ОКСИДАТИВЕН СТРЕС:
ЕФЕКТ НА ОКИСЛЕНИТЕ ЛИПИДИ“**

С научен консултант проф. д-р Галя Станева, Секция "Липид-белтъчни взаимодействия" в Институт по биофизика и биомедицинско инженерство към Българска Академия на Науките

Изготвил: доц. д-р Тания Иванова Топузова-Христова, катедра Клетъчна биология и биология на развитието, Биологически факултет на Софийски университет „Св. Климент Охридски“

Данни за докторанта и докторантурата.

Весела Василева Йорданова е завършила специалност Биотехнологии Бакалавърска степен в Биологически факултет на Софийски университет „Св. Климент Охридски“ през 2007 г. и магистърска програма Растителни биотехнологии в същия университет през 2009 г. През 2020 г. е зачислена за докторант на самостоятелна подготовка в професионално направление 4.3. Биологически науки, Докторска програма Биофизика към Секция "Липид-белтъчни взаимодействия" в Институт по биофизика и биомедицинско инженерство към Българска Академия на Науките на основание чл. 67 от Закона за развитие на академичния състав в Република България, чл. 11 от Правилника за прилагане на Закона за развитие на академичния състав в Република България, и Правилника за условията и реда за придобиване на научни степени и заемане на академични длъжности в Институт по биофизика и

биомедицинско инженерство към Българска Академия на Науките За срока на докторантурата, Весела Йорданова успешно е положила всички необходими изпити и е изпълнила задачите, съгласно одобрения индивидуален план. На 27.07.2023 г. е проведен открито секционен заседание на секция „Липид-белтъчни взаимодействия“ за отчисляване и предзащита на дисертационен труд на който е направено предварително обсъждане на дисертационния труд и е взето решение за насочване към официална защита. Спазени са всички срокове и минималните национални изисквания, като представената документация напълно отговаря на изискванията на ЗРАСРБ, а дисертационният труд и авторефератът успешно са преминали проверката за превенция на плагиатство. Няма установени нарушения при реализирането на процедурите по изработване, отчисляване и предварително обсъждане на дисертационния труд.

Освен работата си по дисертационния труд, Весела Йорданова е повишавала научния си капацитет, като е била участник в общо 7 научни проекта и ръководител на един младежки, свързани с областта на дисертационната ѝ тема, които са финансирани от ФНИ на МОН и по програма COST action и билатерално споразумение с Египет. Извън дисертационния си труд, докторант Йорданова е съавтор още в 11 научни публикации в областта на биомедицинските изследвания и биофизиката.

Данни за дисертацията.

Темата на дисертационния труд „Мембранна реорганизация при оксидативен стрес: Ефект на окислените липиди“ изцяло отразява същността на работата, която е в една бързоразвиваща се област на биомедицинските науки. Темата е актуална с оглед на изясняването на механизмите на мембранната реорганизация при оксидативен стрес. Тези изследвания логично се вписват в общия план на работа на екипа на Секцията „Липид-белтъчни взаимодействия“, като едно комплексно изследване, включващо методи от областта на физикохимичните и биофизични изследвания на мембранната организация, което води до резултати както с фундаментално, така и с приложно значение.

Основните части на дисертацията спазват общоприетият за такъв труд план и включват: Увод – 2 страници, Литературен обзор – 41 страници, Цел и задачи – 2 страница, Материали и методи – 9 страници, Резултати и дискусия – 48 страници, Изводи – 2 страница и Приноси – 1 страница. За онагледяване са използвани общо 30 фигури и 4 таблици. Дисертацията е добре балансирана, а обсъждането на получените

резултати е добре направено с оглед на физикохимичните параметри влияещи върху формирането на мембранни домени и значението им при интерпретиране на данните в различните моделни системи. Общо дисертационния труд съдържа 151 страници.

Литературният обзор съдържа общо седем точки, разглеждащи структурата на биологичните мембрани и развитието на техните модели, мембранните липиди и концепцията за липидни рафтове, видове биомиметични мембранни модели и използването им при изучаване на промените в мембраните при оксидативен стрес и сигнална трансдукция с участие на фосфолипази. Обзорът е направен на достъпен език, стегнато и ясно и е онагледен с 16 фигури, които са надлежно цитирани. Специално внимание е обърнато на съвременните методи, които дават по-добри възможности за изучаване на доменната организация на мембраните и по-специално на плазмалемата.

Целта на дисертационния труд е да се изследва влиянието на биологично активни окислени липиди върху мембранната латерална организация и активността на sPLA2 в моделни системи с различна степен на ненаситеност на мастните киселини при sn-2 позиция. изведена и към нея логично и систематично са формулирани седем задачи, очертаващи логиката и плана, по който е проведена експерименталната част на дисертационния труд, како към всяка от задачите е отбелязан и основния метод чрез който ще се изпълни. Задачите включват създаването на изчерпателни моделни системи в зависимост от ламеларността, фазовите състояния и преходи, които са използвани за изследване на влиянието на ненаситеността на липидите върху образуването на рафт домени и активността на секреторните фосфолипази, размера на рафтовете в присъствие на окислени липиди, както и анализ на скоростта на ензимната реакция в мембранни системи, моделиращи течно-неподреденото фазово състояние (Ld) и хетерогенното Lo/Ld състояние.

В частта Материали и методи са посочени използваните за създаването на моделите липиди, като са дадени структурните им формули и молекулните им маси, а освен това са представени и структурните формули на флуоресцентните сонди DPH, TEMPO и Laurdan, използвани за оценка на степента на подреденост на липидите в моделните мембрани и флуорогенния субстрат PED6 за оценка на активността на фосфолипазите. Методите са описани подробно, с пълен състав на използваните буфери и разтвори, както и достатъчно ясна теоретична обосновка за адекватността им. Общо тази част е онагледена с 14 фигури. Посочени са формулите, по които се изчислява размер на рафт домовете при DPH/TEMPO гасенето, общата поларизация на

Laurdan и начина на интерпретиране на данните от флуоресцентната спектроскопия при определяне на ензимната активност на фосфолипазите. Методите са достатъчно добре описани, за да могат да се повторят.

Резултатите са добре обяснени и илюстрирани, като стриктно следват поставените задачи. Успоредно с обяснението на резултатите е направено и кратко обсъждане на всеки от тях. При изготвянето на моделните системи за изучаване на липидната организация е установено, че чистите PC везикули, модел на Ld фаза, се характеризират с най-ниски стойности на подреденост и съответно на гасене на DPH, а с най-висока се характеризира сместа SM/Chol (50:50), модел на Lo фаза. Всички останали смеси, бинарни и трикомпонентни, представящи Lo/Ld ко-съществуване се разполагат между тези стойности. За разлика от бинарните смеси, при трикомпонентните системи се наблюдава по-голяма степен на подреденост при полиненаситените мембрани в сравнение с мононенаситените. Окислените липиди повишават капацитета за формиране на рафт домени, което се потвърждава и от други автори, но механизмите за това не са изяснени. Дисертационният труд прави стъпка в тази посока, като в него се сравняват различни по сложност смеси и се оценяват размера на получените рафтове в зависимост от степента на хидратация на липидите. Докторантката доказва, че поради високата чувствителност на ω -3 докозахексаенова мастна киселина към автоокислителни процеси, експерименталните условия имат голямо значение, включително използваният протокол за смесване и хидратация на липидите и по-конкретно температурата, при която се формират липозомите, както и времето на измерванията. Резултатите от тези изследвания водят до аргументирано предложение за оптимизация на широко използван в научните изследвания протокол, чрез която би се избегнало допълнително окисление на липидите в моделните мембрани и от там погрешна интерпретация на получените данни. Изследванията за промени в активността на секреторни фосфолипази показват потисната активност в присъствие на холестерол в еднокомпонентни мембрани и POVPC при всички изследвани Lo/Ld мембрани. От получените резултати са направени девет извода, които отговарят на представените данни и анализи.

Научен апарат. Цитирани са общо 417 източника, от които само 2 на български език. Всички източници имат пряко отношение към изследваната тема, което показва отличната осведоменост на докторанта. Цитиранията са направени при спазване на утвърдените стандарти за цитиране на научна литература.

Приложения. Няма специално посочени Приложения към дисертацията и автореферата, но като такава може да се приеме Списък на използваните съкращения, който е полезен и облекчава четенето на дисертационния труд.

Авторефератът съдържа 53 страници и отразява коректно съдържанието на дисертационния труд. Коректно са представени основните резултати, илюстрирани с общо 22 фигури. Частите Увод и Материали и методи са представени в максимално съкратен вид, за да се даде възможност за по-пълното представяне на Резултати, Изводи и Приноси. Представен е и списък на публикациите и участията в научни форуми, свързани с дисертационния труд.

Публикации. Резултатите от дисертационния труд, както и части от направения литературен обзор, са представени на 6 национални и международни научни форума и са включени в три статии, публикувани в списания с импакт фактор и квартали (Съответно Q1, 2 и 3) - International Journal of Molecular Sciences, Доклади на БАН и Oxidation Communications. Тези публикации напълно покриват и надвишават минималните национални изисквания за защита на дисертация за научната и образователна степен Доктор в научно направление 4.3. Биологични науки, съгласно Приложение 1 на ЗРАСРБ.

Научни и научно-приложни приноси. Приносите от дисертационния труд са общо три и са с научно-приложен и фундаментален характер. Един от приносите е свързан с подобряването на протокола за хидратиране и смесване на липиди при формиране на моделни системи, съставени от полиненаситени и окислени глицерофосфолипиди. Другите два са получаване на нови данни, свързани с латерална мембранна организация, индуцирана от окислените липиди POVPC и PGPC в биомиметични системи, както и с промените в активността на секреторната фосфолипаза A2 в зависимост от вида на окисления липид и степента на ненаситеност на мастната киселина при sn-2 позиция в молекулата на глицерофосфолипидите

Заклучение.

Представеният ми за рецензия труд е изследване на ефектът на оксидативния стрес върху мембранната липидна организация. Дисертационният труд е фокусиран върху ефектът на окислените липиди и полиненаситените киселини върху рафт

домените и активността на секретиремата фосфолипаза А. Тази тема би помогнала за изясняване на промените, настъпващи в плазмалемата при оксидативен стрес и начина на модулиране на клетъчната сигнализация във връзка с това. Докторант Весела Йорданова е изпълнила поставените в дисертацията цели и задачи и напълно отговаря на изискванията по Приложение 1 на ЗРАСРБ по отношение на брой публикации.

В заключение, считам, че докторантът напълно отговаря на изискванията на ЗРАСРБ за присъждане на научната и образователна степен „доктор“ и давам своята положителна оценка да бъде присъдена научната и образователна степен „доктор“ в научно направление 4.3. Биологични науки на Весела Василева Йорданова.

06.09.2023

Гр. София

Изготвил рецензията:

/доц. д-р Таня Топузова-Христова/