

РЕЦЕНЗИЯ

върху дисертационен труд за придобване на образователната и научна степен "доктор"
по професионално направление 4.2. "Химически науки",
научна специалност "Физикохимия"

Автор на дисертационния труд: Свободан Александров Александров, Институт по физикохимия на БАН (ИФХ-БАН)

Тема на дисертационния труд: "Взаимодействие в тънки течни филми от фосфолипиди и специфични полимери на алвеоларния сърфактант"

Научен ръководител на докторанта: акад. Дочи Ексерова

Научен консултант: чл. кор. Здравко Лалчев

Рецензент: проф. д-р Галя Марчева Станева, Институт по биофизика и биомедицинско инженерство на БАН

Професионални автобиографични бележки

Свободан Алкесандров се дипломира като магистър по молекулярна биология със специалност "Биохимия" в Биологически факултет при СУ "Св. Климент Охридски" през 2000г. През 2001г. Свободан Александров започва редовна докторантура в Института по молекулярна биология на БАН, която се прехвърля впоследствие в ИФХ-БАН.

Настоящата си докторска програма, Свободан Александров започва през 2003г. с решение на Научния съвет на ИФХ-БАН (Протокол 20 от 18.12.2002г.) в секция "Повърхности и колоиди" с научен ръководител проф. Дочи Ексерова, а за научен консултант, проф. Здравко Лалчев. Отчислен е с право на защита, считано от 01.02.2005г. със заповед № 45/29.04.2005г.

Понастоящем, Свободан Александров е асистент по биофизика към Катедра "Медицинска физика и биофизика" при Медицински факултет на Медицински университет-София. Докторантът е представил всички необходими документи, в съответствие с Правилника за приложението на ЗРАСРБ в ИФХ-БАН, за да бъде допуснат до защита на дисертационния си труд.

Обща характеристика на дисертационния труд

Дисертационният труд е написан на 97 страници, структуриран е според изискванията за такъв труд. Текстът съдържа: използвани съкращения (1 стр.), съдържание (2 стр.), увод (2 стр.), цел и задачи (2 стр.), литературен обзор (26 стр.), материали и експериментални методи (7 стр.), резултати и обсъждане (46 стр.), основни резултати и изводи (2 стр.), приноси (2 стр.), цитирана литература (5 стр.), списък на публикациите, включени в дисертацията (1 стр.), участия в научни форуми (1 стр.). Използваната литература включва 104 източника. В дисертационния труд са включени 55 оригинални фигури и 7 таблици описващи основните резултати на автора.

Актуалност на разработвания в дисертационния труд проблем

Изследваната тематика от докторанта е изключително актуална, със значимо биомедицинско приложение и с традиции в научните изследвания и внедряването на лечение при новородени с респираторен дистрес синдром (РДС) в България в лицето на проф. Христова, акад. Дочи Ексерова и чл.кор. Здравко Лалчев. Последните двама учени са и ръководители на представената дисертация в областта на физикохимията. Свободан Александров много обрано развива медицинските проблеми, свързани с РДС в текста на дисертацията, вероятно защото основните резултати и приноси са преди всичко с фундаментален характер, но със значимост в областта на медицината. РДС е една от главните причини за заболяемостта и смъртността на недосени новородени бебета. Уврежданията на сърфактантната функция играят важна роля, също така, и в етиологията на РДС при възрастни.

Алвеоларният сърфактант в белия дроб е сложна липид-белтъчна смес, която е жизненонеобходима за осъществяване на нормално дишане. Основната му функция е да намалява повърхностното напрежение на алвеоларната повърхност и да я поддържа разгъната по време на дишането, т.е. да осигури стабилност на алвеолите. Липсата на "зрял" сърфактант в белите дробове е основна причина за развитие на неонатален респираторен дистрес синдром, който може да има и летален изход. Съвременната терапия се осъществява чрез използване на различни нативни или синтетични екзогенни сърфактантни препарати, които изпълняват ролята на човешкия. За установяване на белодробната зрялост на преждевременно родени деца и необходимостта от прилагане на сърфактант терапия е от изключително значение за изследването на състава и свойствата на алвеоларния им сърфактант. Приносите на представената от Свободан Александров дисертация са именно в охарактеризирането на някои терапевтични сърфактантни

препарати с цел да се установи компенсаторния им капацитет при недостига на алвеоларен сърфактант.

Смъртността от острия РДС (ОРДС) при възрастни е също силно животозастрашаващо състояние и около половината от пациентите умират въпреки въвеждането на някои нови терапевтични подходи. Патогенезата и патофизиологията на ОРДС е комплексна и не напълно изяснена. Основната характеристика на синдрома е нарушеният баланс на течностите в белия дроб с формиране на белодробен оток от некардиогенен произход. Причина за запълването на алвеоларните пространства с ексудат е нарушен пермеабилитет на алвеолокапилярната мембрана в резултат на дифузни епителни и ендотелни поражения. По този начин всички директни или индиректни фактори – възпалителни, механични, токсични са в състояние да увредят васкуларните ендотелни или алвеоларните епителни клетки, причиняващи ОРДС. Дотук описаните медицински проблеми ясно подчертават изключителната актуалност и значимост на разработвания в дисертационния труд проблем.

Анализ на дисертационния труд

В *увода*, докторантът въвежда накратко читателя в основната проблематика на дисертацията. Отбелязан е основният липиден и белтъчен състав на алвеоларния сърфактант (АС), идентифицирана е основната структура на АС. Дефинирани са естествените терапевтични сърфактанти Curosurf, Infasurf, Exosurf, Survanta и др. с помощта, на които се компенсира недостига на АС. Въведени са основните методи за изследване на повърхностните свойства на терапевтичните сърфактантни препарати: определяне на повърхностното напрежение чрез везната на Langmuir-Wilhelmy, метод за образуване на тънки течни филми/черни филми (клетка на Шелудко-Ексерова) за охарактеризиране на структурата и стабилността на слоевете.

Целите и задачите са формулирани ясно и точно. Докторантът формулира три основни цели на работата си:

- I. Да се изследва влиянието на заредени (lysoPG) и незаредени лизолипиди (lysoPC) върху физикохимичните свойства на естествени терапевтични сърфактантни препарати (Infasurf и Curosurf) с помощта на тънки течни филми и монослой.
- II. Да се провери влиянието на електролитите Na^+ и Ca^{2+} върху стабилността на тънките течни филми и поведението на монослоеве при компресия/декомпресия.

III. Да се изследват експериментално свойствата на тънки течни филми от AS-B като функция от концентрацията на електролит (C_{el}) директно измерване на изотерми на разклинящо налягане ($\Pi(h)$) за различни типове филми, получени от AS-B.

За постигането на тези цели са формулирани следните задачи:

1. Да се намерят C_c и C_l стойностите за лизолипидите и сърфактантните препарати
2. Да се провери как ниски концентрации лизолипиди повлияват стабилността на тънките течни филми от сърфактантни препарати в смес в присъствие на моно- и бивалентни йони
3. Да се изследва времето за разтичане на лизолипидите и смесите с терапевтични сърфактантни препарати
4. Да се изследват динамичните изотерми на повърхностното напрежение на чистите лизолипиди и смесите им с терапевтичните сърфактантни препарати
5. Да се изследва зависимостта на тънките течни филми от AS-B от концентрацията на NaCl и на базата на получените резултати да се подберат концентрации, при които да се извърши директно измерване на силите на взаимодействие чрез изотерми на разклинящо налягане

Литературният обзор е много добре структуриран, целенасочен и информативен. Подробно е описан липидният и белтъчният състав, метаболизма и функциите на алвеоларния сърфактант. Отдиференцирани са синтетичните и естествени терапевтични сърфактантни препарати, описан е подробно съставът на основните изследвани в дисертацията терапевтични препарати. Въведен е прецизно основният инструмент на изследване, а именно дадена е дефиницията на тънките течни филми, въведена е теорията за тънките течни филми, кинетиката и стабилността им. Представени са литературни данни, свързани с изследвания на лизолипиди и терапевтични сърфактантни препарати посредством тънки течни филми. Описана е стегнато и теорията на адсорбционните свойства и повърхностното напрежение на въздушно-водната фазова граница, тъй като основна функция на алвеоларния сърфактант е именно да понижава повърхностното напрежение в алвеолите.

От прегледа на изложените в раздел *Материали и експериментални методи* може да се заключи, че в процеса на обучението си докторантът е усвоил достатъчен брой разнообразни методи. Усвоил е умения за работа с липиди, белтъци и екзогенни сърфактантни препарати, създаване и изследване на различни видове слоеве. Основните методи на изследване са микроинтерферометричния метод за изследване на тънки филми

на Шелудко-Ексерова, модифициран вариант на клетката на Шелудко-Ексерова за директно измерване на силите на взаимодействие, Лангмюирови везни за определяне на повърхностното напрежение и двумерното налягане.

Представяне и обсъждане на получените резултати

Раздел „Резултати и дискусия“ е структуриран в две части, които са формулирани от докторанта по следния начин:

1. Тънки течни филми от лизолипиди и терапевтични сърфактантни препарати
2. Монослоеве от лизолипиди и терапевтични сърфактанти, изследвани чрез везната на Лангмюир. Така формулираните заглавия на получените резултати не насочват читателя към смисъла на провежданите експерименти, а именно какви характеристики е било необходимо да бъдат измерени, за да се охарактеризират алвеоларните сърфактанти. Идеята на автора е била да ги раздели по методи, но в този случай, формулировката на първото заглавие е непълна. Необходимо е било да се цитира метода/методите на наблюдение/детекция, както това е направено във втората формулировка.

Силна страна на представената дисертация е, че е извършена значителна по обем експериментална работа и са получени съществени резултати, които са представени чрез огромен брой фигури (55) и 7 таблици. Основните резултати са описани изключително методично, технически издържано, прецизно и с разбиране. Намирам, обаче, дискусията на получените резултати доста ограничена, сведена единствено до дискусия на получените от автора резултати. Липсва връзката и съпоставката на получените резултати с тези, известни досега в литературата по тематиката на дисертацията. Също така, не намерих в дисертацията отзвук на основните резултати, получени в областта на физикохимията, какво евентуално приложение биха намерили в областта на медицината. Ето защо формулирам следните **въпроси към докторанта**, а именно: с каква цел са изследвани двата естествени терапевтични сърфактанти, има ли такъв който е по-добър от другия, при какви условия, лизолипидите как повлияват повърхностните свойства на терапевтичните сърфактанти, кой от лизолипидите прави даден терапевтичен сърфактант по-лош/по-добър и защо? Читателят е оставен, сам да извлече тази информация от получените резултати и недостигът на тази информация се корени вероятно във факта, че авторът не е дискутирал по-подробно актуалността и значимостта на представената тематика в началото на дисертационния труд, каква е била обосновката, за да се изследват точно тези два терапевтични сърфактанта.

Авторът формулира напълно коректно 10 основни изводи и 5 основни приноси, които считам за достоверни, основани на получените резултати. Тук по-долу цитирам, някои от основните приноси на докторанта, които са описани като чисто фундаментални, но имат потенциал да бъдат преформулирани като приноси с научно-приложен характер:

1. Доказано е влиянието на lyso PC върху повърхностната активност на Infasurf – както чрез метода на тънкия течен филм, така и чрез изследване на монослой, съдържащ двата сърфактанта. Ниските концентрации на лизолипида в смес с Infasurf водят до дестабилизиране на образуването на тънки течни филми (ТТФ), както и до повишаване на стойността на повърхностното напрежение при компресия/декомпресия на монослоя. Резултатите показват приложимостта на модела на ТТФ за изследване на инхибиращия ефект на лизофосфолипидите върху алвеоларния сърфактант (АС), както и ролята на лизофосфолипидите за физиологичната активност на терапевтичните сърфактантни препарати при промяна в състава им.
2. Установено е влиянието на lyso PC и при смесването му с Curosurf чрез метода на ТТФ и изследванията на монослой. Намерено е дестабилизиране на образуването на черни филми от Curosurf в присъствието на ниски концентрации на lyso PC – както при използване на NaCl, така и при смяна на електролита с CaCl₂.
3. Установено е влиянието на lyso PG при смесването му с Curosurf. чрез метода на ТТФ и чрез изследванията на монослой като е показано дестабилизиране на образуването на черни филми от Curosurf в присъствието на ниски концентрации на lyso PG при физиологична концентрация на NaCl, но не и при смяна на електролита с CaCl₂.

Авторефератът е оформен съгласно изискванията и отразява основните раздели и резултати от дисертационния труд. Нямам допълнителни забележки към автореферата, освен тези отбелязани за дисертационния труд.

Преценка на публикациите по дисертационния труд и участия в научни форуми

Резултатите от изследванията са публикувани в 5 научни статии, три от които с импакт фактор: в *Colloid and Polymer Science* (IF=1.906; Q2, 2006), *Biotechnology and Biotechnological Equipment* (IF=1.097; Q3; 2009), *Bulgarian Chemical Communications* (IF=0.242; Q4; 2016). В последните две публикации докторантът е първи автор, което доказва личния му принос. Две от публикациите са в сборници от конференции и докторантът също е първи автор. Резултатите от дисертационния труд са представени на 5 научни конференции с 2 доклада и 3 постера.

Отражение на научните публикации на кандидата в българската и чуждестранната литература

Цитати на научните трудове, с които докторантът отчита дисертационния си труд все още не се забелязват.

Лични впечатления от докторанта нямам.

Заклучение

Представената за защита дисертационна работа се характеризира като задълбочено изследване в областта на физикохимичните науки, проведено на много добро научно ниво. Извършена е голяма по обем експериментална работа и са получени научни резултати, които представляват ценен принос в науката. Свободан Александров притежава много добра теоретична, методична и техническа подготовка, придобил е научно-изследователски опит и умее да интерпретира адекватно получените експериментални резултати.

Въпреки отбелязаните забележки в хода на изложението на рецензията, свързани с формулировката на актуалността и значението на тематиката на дисертационния труд, дискусията на получените резултати съобразно вече съществуващите литературни данни, както и преформулирането на приносите с цел изясняване на приложността на получените данни в областта на медицината, считам че представеният дисертационен труд не губи в никакъв случай научната си стойност в областта на физикохимията.

Дисертационният труд отговаря на всички изисквания на Закона за развитие на академичния състав в Република България и на Правилника за специфичните условия и реда за придобиване на научни степени и заемане на академични длъжности в ИФХ- БАН.

Като член на Научното жури гласувам положително и препоръчвам на уважаемите членове на Научното жури да присъдят образователната и научна степен „доктор” на Свободан Александров Александров в професионално направление 4.2. Химически науки, научна специалност „Физикохимия”.

28.01.2020г.

Рецензент:

/Проф. д-р Галя Станева/