

БЪЛГАРСКА АКАДЕМИЯ НА НАУКИТЕ
И-Т ПО ЕКСПЕРИМЕНТАЛНА МОРФОЛОГИЯ,
ПАТОЛОГИЯ И АНТРОПОЛОГИЯ С МУЗЕЙ
Вх. № 121
17 05 2021
СОФИЯ

СТАНОВИЩЕ

от проф. Маненка Борисова Димитрова
член на Научно жури, назначено със заповед РД-15-27 на Директора на ИЕМПАМ-БАН

Относно: Дисертационен труд за придобиване на научната степен „доктор на науките“ по специалност „Биохимия“ (01.06.10) от Професионално направление 4.3 „Биологически науки“ на тема „Биохимични основи на Алцхаймеровата болест“ с автор проф. Людмил Пенюв Кирацов.

Дисертантът е представил пълен набор отлично изработени и изрядно подредени документи, в пълно съответствие с изискванията на ЗРАСРБ и неговите Правилници.

Людмил Пенюв Кирацов е избран за професор по „Биохимия“ (01.06.10) през 2016 г. в ИЕМПАМ-БАН след успешно кандидатстване по обявен конкурс. Биографичните му данни показват впечатляваща научна кариера с многобройни специализации в Германия, публикации в изтъкнати международни и национални списания, представяне на резултати на научни форуми у нас и в чужбина и голям брой забелязани цитати (над 450, $h = 9$, общ IF 43.32). Признание за неговите качества не само на учен, но и като администратор е изборът му за Председател и участник в комисиите на ФНИ към МОН (2017-2021 г.) и за Председател на ОСУ в ИЕМПАМ (2019 г. до сега). Справката с изискванията за придобиване на научната степен „доктор на науките“ от Правилника на ИЕМПАМ за приложение на ЗРАСРБ показва 652 т., което значително надхвърля праговия минимум от 350 т.

Представеният за мнение дисертационен труд е написан на 280 страници и съдържа стандартните раздели, като най-много място е отделено на представянето на резултатите и тяхното обсъждане (150 стр.). Резултатите са илюстрирани с 9 таблици и 86 фигури с отлично качество.

Дисертацията е посветена на актуален проблем – проучване биохимичните основи на патогенезата на Алцхаймеровата болест (АБ). Независимо от многобройните публикации по проблема, етиологията на това тежко прогресиращо невродегенеративно заболяване все още не е изяснена, поради което липсва и адекватно лечение и засега се прилагат главно поддържащи терапии.

Литературният обзор е написан стегнато и целенасочено. Описани са мембранната форма на амилоидния прекурсорен протеин (APP), неговото процесирание, амилоидния бета пептид и формите му ($A\beta$), τ -протеина, както и известното до момента за ролята на тези компоненти в норма и при АБ. Посочени са потенциалните фактори за развитие на АБ и използваните моделни системи за проучване на заболяването. Специално внимание е отделено на смесената патология при АБ, която е и най-важната причина за отсъствие на ефективно лечение. Използвани са данни от 700 източника, което е отражение на актуалността на темата, но и на отличната осведоменост на дисертанта.

Използваните материали и прилаганите методи са описани достатъчно подробно, за да могат експериментите да бъдат повторени. Прави впечатление огромният набор от биохимични, имунни, генетични и други методи, използвани от проф. Кирацов. На всеки етап от работата е правен анализ на ефективността на прилагания метод, внасяни са

подобрения или са изпробвани и други методи, което показва висока прецизност и подчертан стремеж за получаване на максимално достоверни резултати. Подходящ пример е сравнителното проучване на два метода за определяне на белтък (на Лоури и на Брадфорд), за да се установи по-подходящият за мембранно-свързани протеини. Също така, за количествен анализ на отделени при различни условия APP и негови разпадни продукти (A β) са използвани тъканни срезове, но също и разработен от проф. Кирацов метод за изолиране на растежни конуси и синаптозоми. Дисертацията изобилства с примери за търсене и намиране на най-добрите експериментални процедури за всяко конкретно изследване. Трябва да се отбележи и прилагането на много съвременни изследователски методи като култивиране на неврони върху мрежа от микроелектроди, изолиране, секвениране и картиране на РНК-транскрипти, RT-PCR и RT-qPCR, биоинформативна идентификация на линейни и кръгови РНК, експерименти с трансгенни лабораторни животни. Богатството от експериментални методи и прецизното им прилагане са довели до получаването на значими научни резултати.

Резултатите и обсъждането са представени много ясно и подредено. Мотивацията за провеждане на всеки експеримент се опира на данни от литературата и/или собствени наблюдения. След всеки получен резултат е дадено заключение, което очертава неговото значение и логично води до следващото проучване.

Получени са данни за значението на глутаматните рецептори за секреция на APP и неговото процесирание от калций-зависими протеази, както и за отсъствието на обратна връзка между количеството на разтворимия APP и APP-секрецията. Подробно е изследвано значението на васкуларния ендотелен растежен фактор (VEGF) върху процесирането на APP и е показано, че той води до преходно потискане на A β -фибрилогенезата. Показано е, че IL-1 β има съществена роля за холинергичния дефицит, наблюдаван при пациенти с АБ, чрез потискане на вътреклетъчни транскрипционни фактори, които могат да станат потенциални таргети за бъдещи терапевтични схеми.

Впечатляващо е проведеното изследване върху значението на холинергичната денервация за патогенезата на АБ. За целта са използвани трансгенни мишки с АБ, при които е предизвикана холинергична имунолезия на базалните ядра с имунотоксин. Това третиране е довело до развитие на патология, по-близка до наблюдаваната при хора с АБ. Може да се каже, че е намерен начин за подобряване на животинския модел на АБ, който да се използва при бъдещи проучвания. Изследването с този модел обхваща широк спектър от биохимични фактори и води до извода, че холинергичната денервация е от ключово значение за амилоидогенезата. Този резултат е в подкрепа на бъдещи изследвания за лечение с холиномиметици.

По отношение на физиологичната роля на APP, досега не е постигната яснота. Приносът на проф. Кирацов в този аспект се основава на изследвания върху хомогенати, изолирани растежни конуси и синаптозоми от ембриони, които показват убедително ролята на APP за синаптогенезата и поддържането на нормалната синаптична функция. Тези резултати са потвърдени и от проучвания върху експресията на мРНК на различни изоформи на APP при онтогенезата, които са позволили да се установи коя от тях е ключова за формирането на синаптичните връзки. Проучванията са разширени върху периферни тъкани, като е показано значението на APP за тяхното развитие.

Важен научен принос на проф. Кирацов е прилагането на модела на „невронални мрежи, култивирани върху мрежа от микроелектроди“ за установяване ролята на различните Аβ-пептиди за потискане електричната активност на невроните. Прилагането на този модел позволява да се допусне, че действието на Аβ-пептидите е опосредствано от рецептори, а по-подробни проучвания насочват вниманието към GABA-рецепторите. То е позволило да се получат и данни в полза на хипотезата за участието на мономерните разтворими Аβ в патогенезата на АБ, съгласно която образуването на плаки отразява „стремежа“ на организма да обезвреди токсичните Аβ.

За първи път са направени подробни изследвания на синаптозомалния транскриптом при млади и възрастни животни, за да се определят разлики, които биха насочили към патогенезата на АБ, тъй като болестта е характерна предимно за хора в напреднала възраст. Намерени са дълги интервениращи некодиращи РНКи и кръгови РНКи, характерни за стареенето на мозъка, като са потърсени и техни хуманни ортолози. Изследването е проведено с голяма прецизност, което е позволило да се идентифицират много повече на брой РНКи с променена експресия при стареенето от досега известните. Тези резултати дават основата за бъдещи изследвания върху молекулните основи на АБ.

Получени са данни за потискане нивата на APP от оловни соли, което е дало възможност да се предложи механизъм за обясняване невротоксичното действие на оловото.

Посочените по-горе съществени моменти от научната работа на проф. Кирацов не обхващат цялото многообразие от експериментални подходи, изследвани фактори, направени заключения и научни приноси, свързани с биохимичните основи на АБ.

Въз основа на проведените изследвания са направени изводи и са очертани научни приноси, с които съм съгласна. Научните приноси са разделени на оригинални и приложни. Позволявам си да отбележа, че приложните приноси също са оригинални.

Авторефератът отразява правилно съдържанието на дисертацията.

Заключение: Дисертационният труд на проф. Людмил Кирацов представя едно цялостно, задълбочено и прецизно изследване, което във висока степен обогатява познанията за биохимичните механизми на патогенезата на Алцхаймеровата болест. Получените резултати са стойностни, разкриват перспективи за бъдещи проучвания и набелязват потенциални таргети за разработване на нови терапии. Както трудът, така и наукометричните показатели на проф. Кирацов напълно съответстват на изискванията на ЗРАСРБ и неговите правилници.

Въз основа на казаното по-горе с дълбока убеденост препоръчвам на почитаемото Научно жури да присъди на проф. Людмил Пенюв Кирацов научната степен „доктор на науките“ по специалност „Биохимия“ (01.06.10) от Професионално направление 4.3 „Биологически науки“.

17.05.2021 г.

Подпис:

(проф. М. Димитрова)