

РЕЦЕНЗИЯ

от

проф. д-р Милена Георгиева

Българска Академия на Науките, Институт по Молекулярна Биология „Акад. Румен Цанев“, Лаборатория по молекулярна генетика, епигенетика и дълголетие, член на научното жури съгласно Заповед № 121-ОБ/27.05.2026 г. на Директора на ИМБ-БАН

Относно защита на дисертационен труд на тема:

„Синергично индуциране на секреция на извънклетъчни везикули и ДНК от автофагични инхибитори и ДНК-увреждащи агенти“

за придобиване на образователната и научна степен „Доктор“

от **Александър Емилов Александров, дм**

Област на висше образование: **4. Природни науки, математика и информатика**

Професионално направление: **4.3. Биологически науки**

Докторска програма: **Молекулярна биология**

Научен ръководител: **доц. д-р Димитър Борисов Илиев**

Общо описание на представените материали

Със Заповед на директора на Институт по молекулярна биология „Акад. Румен Цанев“, Българска академия на науките съм определена за член на научното жури по процедурата за защита на дисертационния труд на Александър Емилов Александров за придобиване на образователна и научна степен „Доктор“ по професионално направление 4.3. Биологически науки, докторска програма „Молекулярна биология“.

Представеният комплект документи е изготвен съгласно изискванията на Закона за развитието на академичния състав в Република България и Правилника за неговото прилагане. Представени са дисертационен труд, автореферат, автобиография, списък и копия на научните публикации, както и всички останали документи, необходими за провеждане на процедурата по защита. Документацията е пълна, коректно оформена и позволява обективна оценка както на дисертационния труд, така и на цялостната научноизследователска дейност на докторанта.

Кратки биографични данни за докторанта

Александър Емилов Александров, дм е възпитаник на Медицински университет -София, където придобива образователно-квалификационна степен „магистър по медицина“ през 2020 г. Още по време на обучението си проявява интерес към експерименталната биомедицина, като през 2018 г. провежда стаж в Катедрата по

физиология на Медицински университет - София под ръководството на проф. Лиляна Витанова. Същата година печели първо място за устно представяне в предклиничната секция на *International Congress of Medical Sciences* (София), което е ранно признание за неговия научен потенциал. От 2021 г. професионалното му развитие е последователно свързано с Института по молекулярна биология „Акад. Румен Цанев“ - БАН, Секция „Регулация на генната експресия“. През периода 2021–2022 г. работи като биолог-специалист, през 2022-2026 г. заема академичната длъжност асистент, а от 2026 г. отново е биолог-специалист в същото научно звено. Тази последователност отразява устойчивото му участие в научноизследователската дейност на секцията и натрупването на значителен експериментален опит в областта на молекулярната и клетъчната биология.

Научната продукция на Александров включва четири публикации в международни научни списания, индексирани в *Web of Science* и *Scopus*, всички публикувани през последните пет години. Две от тях са пряко свързани с дисертационния труд. Първата е публикувана в *International Journal of Molecular Sciences* (Q1, IF 5.6) и представя оригинални резултати за синергичното действие на хлорохин и темозоломид върху секрецията на извънклетъчни везикули и извънклетъчни нуклеинови киселини в глиомни клетки. Втората е публикувана в *European Journal of Biology* (ESCI, JCR Q4, IF 0.9) и демонстрира, че инхибирането на АТМ стимулира секрецията на извънклетъчни везикули чрез промени в автофагичния отговор, като по този начин допълва и разширява научната концепция на дисертационния труд. Резултатите от неговите изследвания са представени както чрез устни доклади, така и чрез постерни презентации на международни научни форуми. Следва да бъде отбелязано и участието му в няколко конкурентно финансирани научноизследователски проекта.

Актуалност на тематиката и познаване на научната проблематика

През последното десетилетие извънклетъчните везикули се утвърдиха като един от най-интензивно развиващите се обекти на изследване в съвременната клетъчна биология и молекулярна медицина. Първоначално разглеждани като механизъм за елиминиране на клетъчни отпадни продукти, днес те се приемат като ключови медиатори на междуклетъчната комуникация, регулиращи физиологични и патологични процеси, включително възпаление, имуен отговор, невродегенеративни заболявания и туморна прогресия. Особено значение придобиват техните функции в развитието на лекарствената резистентност, ремоделирането на туморната микросреда и формирането на метастатични ниши, което ги превръща в перспективни диагностични, прогностични и терапевтични биомаркери. На този фон изследването на взаимовръзката между автофагията и секрецията на извънклетъчни везикули представлява една от най-динамично развиващите се области на съвременната клетъчна биология. Натрупват се все повече доказателства, че двата процеса са функционално свързани и взаимно се регулират при различни форми на клетъчен стрес, включително при увреждане на ДНК. Независимо от значителния напредък, молекулярните

механизми, които определят тази взаимовръзка, както и последствията от нея при противотуморната терапия, остават недостатъчно изяснени.

Именно в този научен контекст се вписва представеният дисертационен труд. Избраната тема е безспорно актуална и има както фундаментално, така и приложно значение. Изследването на комбинираното действие на автофагични инхибитори и ДНК увреждащи агенти върху секрецията на извънклетъчни везикули и извънклетъчни нуклеинови киселини допринася за по-доброто разбиране на адаптивните механизми, чрез които туморните клетки реагират на терапевтичен натиск. Получените резултати разширяват съществуващите знания относно взаимодействието между системите за поддържане на клетъчната хомеостаза и механизмите на междуклетъчната комуникация.

Особено положително впечатление прави изборът на мозъчния тумор глиобластома (*Glioblastoma multiforme*) като моделна система. Това е едно от най-агресивните човешки неопластични заболявания, характеризиращо се с изразена терапевтична резистентност и ограничени възможности за ефективно лечение. В този смисъл търсенето на нови механизми, които биха могли да повишат чувствителността на туморните клетки към ДНК-увреждащи агенти, има ясно изразена транслационна стойност.

Литературният обзор демонстрира задълбочено познаване на разглежданата проблематика. Докторантът проследява последователно развитието на концепциите, свързани с биогенезата и функционалната хетерогенност на извънклетъчните везикули, механизмите на автофагията, ролята на АТМ-сигналния път в клетъчния отговор към генотоксичен стрес и молекулярните особености на мултиформения глиобластом. Представянето на литературните данни не е механично описание на публикувани резултати, а показва стремеж към логическото им интегриране в единна концептуална рамка, която аргументира необходимостта от проведеното изследване.

Прави впечатление добрата ориентация на докторанта в съвременната научна литература и умението му да идентифицира нерешените въпроси в областта. Това позволява ясно формулиране на научната хипотеза и поставяне на конкретни експериментални задачи, насочени към изясняване на недостатъчно проучени аспекти от взаимодействието между автофагията, ДНК уврежданията и секрецията на извънклетъчни везикули.

Методологичен подход и дизайн на изследването

Представеният дисертационен труд разработва актуален и активно развиващ се научен проблем, свързан с механизмите, чрез които клетките реагират на генотоксичен стрес чрез промяна на своята секреторна активност. Изследването е насочено към изясняване на молекулярните връзки между автофагичната регулация, увреждането на ДНК, клетъчната съдба и освобождаването на извънклетъчни везикули и нуклеинови киселини.

Методологичната стратегия на докторанта е изградена върху разбирането, че извънклетъчните везикули не представляват пасивни клетъчни отпадъчни структури, а

активни медиатори на междуклетъчна комуникация, чрез които клетките променят локалното си микрообкръжение и предават информация за състоянието си. В този контекст изборът на експерименталния модел и използваните подходи е научно обоснован и позволява анализ на сложни взаимовръзки между вътреклетъчните процеси и извънклетъчния отговор.

В изследването е приложен комплексен набор от съвременни методи, включващи клетъчни модели, фармакологично индуциране на различни типове стрес, анализ на клетъчната жизнеспособност, генотоксичност, механизми на клетъчна смърт, автофагична активност и характеристика на секретирания извънклетъчни компоненти. Комбинацията от молекулярно-биологични, биохимични, микроскопски и биофизични методи осигурява необходимата комплексност за надеждна оценка на изследваните процеси и позволява формулиране на обосновани заключения.

Особено важно достойнство на методологичния подход е, че изследването не се ограничава единствено до описване на фенотипни промени, а се стреми да разкрие механизмите, определящи секреторния отговор на клетките при условия на нарушена хомеостаза.

Характеристика и научна оценка на дисертационния труд

Дисертационният труд на Александър Александров представлява самостоятелно експериментално изследване върху актуален проблем в съвременната клетъчна и молекулярна биология – механизмите, чрез които клетките интегрират различни форми на стрес и променят своята междуклетъчна комуникация.

Темата е особено значима, тъй като извънклетъчните везикули (ИКВ) се утвърдиха като ключови медиатори на клетъчната комуникация, участващи както във физиологични процеси, така и в развитието на патологични състояния, включително туморна прогресия. В този контекст изследването на взаимодействието между автофагията, ДНК увреждащия стрес и секрецията на ИКВ представлява важен принос към разбирането на механизмите на клетъчната адаптация.

Съществено достойнство на дисертацията е формулирането на научен въпрос, който разглежда автофагията и генотоксичния отговор не като изолирани процеси, а като взаимосвързани компоненти на сложна клетъчна мрежа. Избраният подход отразява съвременната концепция за клетката като динамична система, в която вътреклетъчните механизми за поддържане на хомеостазата са тясно свързани с процесите на извънклетъчна сигнализация.

Получените резултати показват, че комбинираното действие на автофагични инхибитори и ДНК-увреждащи агенти води до специфични промени в секреторния профил на клетките, включително освобождаване на извънклетъчни везикули и нуклеинови киселини. Това допринася за по-доброто разбиране на начина, по който туморните клетки реагират на генотоксичен стрес и адаптират своето поведение при нарушена клетъчна хомеостаза.

Едно от основните достойнства на разработката е комплексният анализ на клетъчния отговор чрез проследяване на жизнеспособност, генотоксичност, клетъчна

смърт, автофагия и секреторна активност. По този начин резултатите не се ограничават до описване на отделни фенотипни промени, а позволяват изграждането на по-цялостен модел на взаимодействие между вътреклетъчните стресови сигнали и извънклетъчната комуникация.

Особен интерес представлява експерименталният дизайн, позволяващ оценка както на индивидуалните ефекти на използваните агенти, така и на техните потенциални синергични взаимодействия. Този подход има значение за разбирането на сложните механизми, определящи клетъчния отговор към терапевтични въздействия.

Като цяло дисертационният труд се вписва в една от динамично развиващите се области на съвременната молекулярна медицина - изучаването на механизмите, чрез които клетките комуникират и се адаптират към стресови условия. От гледна точка на приложната биомедицина, изследването е значимо и поради нарастващия интерес към ИКВ и свързаните с тях молекулярни компоненти като потенциални биомаркери за диагностика, проследяване на заболявания и оценка на терапевтичен отговор. Разработката демонстрира задълбочено познаване на научната проблематика, успешно приложение на съвременни експериментални подходи и необходимото ниво на самостоятелност и научна зрялост, очаквани от докторант в областта на молекулярната биология.

Научни приноси

В представения дисертационен труд докторантът не е формулирал самостоятелен раздел с научни приноси. Въз основа на анализа на експерименталните резултати и направените изводи могат да бъдат открити следните основни научни приноси:

- 1. Получени са нови експериментални данни относно взаимодействието между автофагичната регулация, ДНК увреждащия стрес и секрецията на извънклетъчни везикули и извънклетъчни нуклеинови киселини.**
- 2. Установена е ролята на комбинираните стресови въздействия за модулиране на секреторния профил на туморни клетки,** което допринася за по-доброто разбиране на механизмите на клетъчната адаптация и междуклетъчната комуникация.
- 3. Чрез комплексен експериментален подход е извършена оценка на взаимовръзката между клетъчна жизнеспособност, генотоксичност, автофагия, клетъчна смърт и освобождаване на извънклетъчни структури,** което разширява познанията за клетъчния отговор при генотоксичен стрес.

Считам, че така формулираните приноси имат оригинален научен характер, като разширяват съществуващите знания относно регулацията на извънклетъчната комуникация при условия на клетъчен стрес и допринасят към разбирането на сложните взаимодействия между автофагията, ДНК уврежданията и туморната клетъчна адаптация.

Критични бележки, препоръки и въпроси

Представеният дисертационен труд е научно издържан и демонстрира високо качество на експерименталната работа. Направените по-долу бележки имат конструктивен характер и очертават възможности за бъдещо развитие на изследователската линия.

- Би било полезно литературният обзор да включва по-задълбочен анализ на връзката между различните форми на програмирана клетъчна смърт и освобождаването на извънклетъчни везикули. Особено интересна би била по-детайлна дискусия върху разграничаването на активната секреция на ИКВ от пасивното освобождаване на клетъчни компоненти вследствие на клетъчно увреждане.
- Допълнително развитие на темата би могло да включва по-задълбочено молекулярно характеризиране на съдържанието на секретирани везикули чрез съвременни омикс подходи, което би позволило идентифициране на специфични молекулярни подписи при различни видове клетъчен стрес.
- В бъдещи публикации би било интересно резултатите да бъдат разгледани в контекста на потенциалната им клинична приложимост - например като основа за откриване на нови биомаркери или предиктори на терапевтичен отговор.

Тези препоръки не намаляват научната стойност на дисертацията, а подчертават перспективността на разработената научна линия.

Към докторанта имам скледните въпроси:

1. Как интерпретирате ролята на секретирани извънклетъчни везикули и нуклеинови киселини след комбинирано автофагично инхибиране и ДНК-увреждащ стрес: като адаптивен механизъм или като фактор за туморна прогресия?

2. Какви допълнителни подходи бихте използвали за по-задълбочено характеризиране на извънклетъчните везикули и идентифициране на потенциални биомаркери?

Заклучение

Представените документи в конкурса за придобиване на образователната и научна степен „Доктор“ по научна специалност „Молекулярна биология“ очертават профила на докторант Александър Александров като млад изследовател с последователно академично развитие, ясно изразена научна насоченост към молекулярната биология на клетъчния стрес и извънклетъчната комуникация, както и с доказана публикационна активност и участие в национални научноизследователски проекти. Докторантът демонстрира отлична подготовка, умения за работа със съвременни експериментални методи и способност за анализ и интерпретация на сложни клетъчни процеси. Научните резултати допринасят за по-доброто разбиране на механизмите, регулиращи клетъчния отговор към стрес, ролята на автофагията и значението на извънклетъчните везикули като медиатори на клетъчната комуникация и потенциални биомаркери. Дисертационният труд отговаря на всички изисквания за придобиване на образователната и научна степен „Доктор“ по научна специалност „Молекулярна биология“. Това ми дава основание да оценя положително неговото

професионално развитие и потенциала му за бъдеща самостоятелна научноизследователска дейност.

В заключение считам, че дисертационният труд на Александър Емилов Александров на тема **„Синергично индуциране на секреция на извънклетъчни везикули и ДНК от автофагични инхибитори и ДНК-увреждащи агенти“** представлява оригинално, задълбочено и научно значимо изследване в областта на молекулярната биология. В резултат на цялостната ми оценка на научните резултати, оригиналността на изследването, публикационната активност и личния принос на докторанта, давам своята категорично положителна оценка и убедено гласувам с **„ДА“** за присъждане на образователната и научна степен **„Доктор“** на Александър Емилов Александров.

гр. София

Проф., д-р Милена Георгиева:

10.07.2026 г.
