

СТАНОВИЩЕ

От проф. д-р Иванка Цачева,
Катедра Биохимия, БФ, СУ „Св. Климент Охридски“
член на НЖ, назначено със заповед № 121-ОБ/27.05.2026 г.
на директора на ИМБ, БАН

Относно: Дисертационен труд за присъждане на образователната и научна степен „Доктор“ в професионално направление **4.3. Биологически науки** на тема: „Синергично индуциране на секреция на извънклетъчни везикули и ДНК от автофагични инхибитори и ДНК агенти, предизвикващи увреждания“

Докторант: Александър Емилов Александров, докторант на самостоятелна подготовка към секция „Регулация на генната активност“ при ИМБ, БАН

Научен ръководител: Доц. д-р Димитър Илиев

Възобновеният интерес към извънклетъчните везикули е свързан с актуализиране на научното познание за тяхната физиологична роля и участието им в редица процеси, поддържащи човешката хомеостаза. По-пълното им характеризиране ги представя като динамични по състав структури, които носят ценна информация относно състоянието на клетките, които ги отделят, относно молекулната комуникация между различни видове клетки, а оттам и относно отключвани или вече съществуващи патологични състояния. По тази причина извънклетъчните везикули имат роля като диагностични маркери в автоимунни, онкологични, сърдечно-съдови, метаболитни и невродегенеративни заболявания, чрез които се откриват и проследяват тези патологични състояния.

В мембранни домени на ендозоми и мултивезикуларни тела се откриват автофагични молекулни маркери като LC3 (microtubule-associated protein light chain 3) и p62. Автофагията, еволюционно консервативен катаболитен процес, е свързана със секрецията на извънклетъчни везикули, като двата процеса се допълват и осигуряват поддържането на хомеостазата чрез елиминиране на вреден или излишен материал.

При противоракови терапии често се прилага инхибиране на автофагията, което прави клетки с нарушена регулация на апоптозата чувствителни към метаболитен стрес. Такива инхибитори са хлорохин (CHQ) и Bafilomycin A1 (BafA1).

Темозоломид (TMZ) е алкилиращ агент, който се включва в стандартния терапевтичен подход след резекция на мултиформен глиобластом. Но терапията с темозоломид има временен ефект поради честото развиване на резистентност, като повишената експресия на автофагични маркери се асоциира с по-лоши прогнози. В този смисъл комбинирано третиране с автофагичен инхибитор би имала по-добър

терапевтичен ефект. Всичко това прави темата актуална не само като фундаментално изследване, но и обещаваща в клинично приложен аспект.

Целта на представения дисертационен труд е да се изследва взаимодействието между инхибитори на автофагия и ДНК-увреждащи агенти от една страна и освобождаването на извънклетъчни везикули и извънклетъчни нуклеинови киселини от друга. Задачите са стройна, логическа последователност от експерименти, които да водят към изпълнение на поставената цел.

Целта е постигната чрез комплексен експериментален подход, в който се включва анализ на глиобластомните клетъчни линии U87-MG и U138-MG, както и ендоцервикалната аденокарциномна линия HeLa Kyoto (CVCL_1922) при третиране с TMZ и CHQ. Изследвани са цитотоксичната активност на CHQ и TMZ, състава и размерите на секретирани извънклетъчни везикули при третиране с CHQ и TMZ, състава и количеството на секретирани нуклеинови киселини, количеството увредена ДНК в клетки при комбинирано третиране, инхибирането на автофагия от инхибитори на АТМ киназа, влиянието на АТМ инхибитори върху секрецията на извънклетъчни везикули, взаимодействието на АТМ инхибитори с ДНК-увреждащи агенти по отношение на индуцираната от тях секреция на извънклетъчни везикули.

Като резултат от работата е установено, че CHQ значително повишава цитотоксичния ефект на TMZ срещу TMZ-резистентни клетки, като се наблюдава синергично действие на TMZ и CHQ при индукцията на секретирани извънклетъчни везикули, съдържащи автофагични маркери и caveolin-1 в култури от U87-MG клетки и U138-MG. Намерено е, че TMZ повишава индуцираната от Bafilomycin A1 секреция на извънклетъчни везикули, а CHQ и етопозид синергично индуцират секреция на автофагични маркери във фракцията на големи извънклетъчни везикули. CHQ усилва предизвикания от TMZ отговор към увредена ДНК без да увеличава съдържанието на увредена ДНК в U87-MG клетки, а CHQ и TMZ синергично индуцират секреция на извънклетъчни нуклеинови киселини в култури от същите клетки. Установено е също, че АТМ инхибиторите KU-60019 и KU-55933 индуцират секреция на малки и големи извънклетъчни везикули, носещи автофагични маркери и такива, типични за класически екзозоми и предизвикват натрупване на LC3B-II и p62 в HeLa Kyoto клетки. Третиране с етопозид синергично увеличава индуцираната от KU-60019 секреция на големи и малки извънклетъчни везикули, както и на извънклетъчна ДНК.

За изготвянето на дисертационния труд е извършен изчерпателен и задълбочен анализ на научната литература по темата, цитирани са 99 източника. Получените в хода

на работата експериментални резултати категорично доказват патологичния потенциал на секретираните извънклетъчни везикули и демонстрират капацитета на комбинирано третиране с автофагични инхибитори и ДНК увреждащи агенти за синергично индуциране на секреция на извънклетъчни везикули и нуклеинови киселини. Отлично впечатление прави анализът на резултатите от дисертационния труд в заключителната част, където те са обсъдени и в контекста на вече публикувани данни от други автори. Тази дискусия затвърждава убеждението ми, че работата по настоящия дисертационен труд има оригинален фундаментален принос и новопридобитото знание ще разшири бъдещи терапевтични приложения.

Бих отправила като препоръки към техническото оформление да се избягва използването на чуждици (таргетиране (насочване), домейн (домен), лимитации (ограничения), трансфериране (пренасяне), суплементирана (с добавен...), композиция (състав), дисфункция (нарушена функция)). Фигурите е добре да са разположени възможно най-близо до текста, в който са въведени (например, фиг 1 е на стр.5, а в текста е въведена на стр.3; фиг.2 е на стр.8, а е въведена в текста на стр.4).

Резултатите от дисертационния труд са публикувани в 2 статии в списания с имакт фактор. Освен това резултати са представяни на един международен и два национални научни форума.

В заключение бих искала да отбележа отличните си впечатления от представения дисертационен труд. Извършена е голяма по обем експериментална работа с прецизност и замисъл, които представят Александър Александров като изследовател с аналитичен похват и практически умения с широк обхват. Писменото оформление на дисертационния труд, представен в научно издържан стил, затвърждава отличното впечатление от работата на Александър като цяло. Дисертационният труд и публикациите, свързани с него, надхвърлят изискванията за придобиване на образователната и научна степен „Доктор“, което ми дава основание убедено да подкрепя присъждането на степента на Александър Александров.

13.07.2026
София

Подпис:
проф. д-р Иванка Цачева