



СТАНОВИЩЕ

от доц. д-р Галина Симеонова Радева,

Институт по молекулярна биология „Академик Румен Цанев“ (ИМБ)-БАН,
на дисертационен труд за присъждане на образователната и научна степен „доктор“
по: област на висше образование 4. Природни науки, математика и информатика
професионално направление 4.3. Биологически науки
докторска програма „Молекулярна биология“

Автор: Александър Николаев Душков

Тема: „Природни ниско токсични биологично активни екстракти от български гъби с фокус върху *Amanita muscaria* – анализ на състава, антитуморна активност и механизъм на действие“

Научен ръководител: Проф. д-р Ива Угринова

1.Общо представяне на материалите по процедурата

Със заповед № 218-ОБ/20.12.2024 г. на Директора на Института по молекулярна биология (ИМБ) съм определена за член на научното жури във връзка със защита на дисертационен труд за придобиване на образователна и научна степен „доктор“ по професионално направление 4.3. Биологически науки, докторска програма „Молекулярна биология“. Темата на дисертационния труд е „Природни ниско токсични биологично активни екстракти от български гъби с фокус върху *Amanita muscaria* – анализ на състава, антитуморна активност и механизъм на действие“ на Александър Николаев Душков, докторант в редовна форма на обучение, с научен ръководител проф. д-р Ива Угринова от ИМБ.

Представеният от Александър Душков комплект материали на електронен носител е в съответствие с изискванията на Закона за развитие на академичния състав в Република България (ЗРАСРБ) и Правилника за развитие на академичния състав на БАН и на ИМБ и включва всички изискващи се за процедурата документи.

Кратки биографични данни за докторанта.

Александър Душков притежава ОКС „бакалавър“ по специалността „Молекулярна биология“ (2019г.) и ОКС „магистър“ по специалността „Клетъчна биология и патология“ (2021 г.) от Биологически факултет към СУ „Св. Климент Охридски“. Още като студент Душков започва работа в ИМБ, в секция „Структура и функция на хроматина“ като техник-биолог (2018 г.), след това като биолог (2019 г.-2021г.), където изработва дипломната си работа за получаване на ОКС „магистър“ под ръководството на проф. д-р Ива Угринова. През 2022 г. е зачислен за редовен докторант в същата секция.

3. Характеристика на дисертационния труд

3.1. Актуалност на дисертационната тема, целесъобразност на поставените задачи

Противотуморният потенциал на вторичните метаболити на дървесните гъби е активно изследвана тема в областта на медицинската микология и фармакологията. Извесно е, че някои видове дървесните гъби (напр. *Ganoderma lucidum*, *Trametes versicolor*, *Inonotus obliquus*) съдържат биоактивни съединения, които показват потенциал като естествени противотуморни агенти. След клинични изследвания за потвърждаване на ефективността и безопасността им, тези съединения биха могли да се използват самостоятелно или като допълваща терапия към конвенционалните методи за лечение на рак. Понастоящем микотерапията се прилага успешно в различни европейски страни не само при лечение на онкологични заболявания, но и при други заболявания, напр. диабет и дихателни проблеми. Научните изследванията в нашата страна по отношение на потенциала на възможните биоактивни съединения, извлечени от плодните тела на местни видове дървесни гъби са все още оскъдни. За да допринесе към изследванията по този интересен и актуален проблем, целта дисертационния труд е да се изследва противотуморния ефект на екстракти, получени от различни видове гъби, разпространени на територията на България. По-конкретно целата е насочена към получаване на етанолни и водни извлекци от червената мухоморка *Amanita muscaria*, съдържащи биологично активните съединения- иботенова киселина, мусцидиол и ергостреол, изследването на техния цитотоксичен ефект върху панел от ракови клетки и механизмите им на действие върху клетъчните процеси и клетъчното делене.

Предвид на гореизложеното, считам, че темата на дисертационния труд е актуална и значима в научно отношение. Поставени са пет задачи за изпълнение, които считам че са целенасочени и тяхното изпълнение ще доведе до постигането на целта.

3.2. Познаване на проблема

Литературният обзор разглежда различни видове ракови заболявания при човека, включително рак на белия дроб, простатата, кожата и гърдата. Анализирани са историческият напредък в използването на микотерапията за лечението на тези заболявания. Подробно са описани пет вида дървесни гъби и техните фармакологични свойства. Специално внимание е отделено на противотуморния ефект на биологично активните съединения върху клетъчните процеси, включително увреждане на ДНК, модификации на хроматина и клетъчен стрес. Начинът на оформяне на литературния обзор и аналитичното представяне на информацията, показват че Александър Душков познава отлично съвременното състояние на разработвания научен проблем.

3.3. Методи на изследването

За изпълнението на поставените задачи е подбрана комбинация от съвременни молекулярно-биологични и аналитични методи. Използвани са методи за клетъчно култивиране и третиране, имунофлуоресцентни анализи и микроскопски методи. Приложени са хроматографски методи -високоэффективна течна хроматография (HPLC), електрофоретичен метод (CZE/CCD) и течна мас спектрометрия (UHPLS-MS/MS) за

разделяне и охарактеризиране на биологично активните съединения: иботенова киселина, мусцимол и ергостерол на етанолов извлек от гъбите. Използваните в дисертацията методи съответстват на задачите, гарантирайки тяхното изпълнение.

3.4. Оценка на дисертационния труд.

Дисертационният труд на Душков е написан на 117 страници, съдържа 47 фигури, 4 таблици и 248 цитирани литературни източника.

Структуриран е съгласно общоприетите изисквания за този вид трудове и съдържа разделите: Въведение (2 стр.); Литературен обзор (37 стр.); Цел и задачи (1 стр.); Материали и методи (20 стр.) Резултати и Обсъждане (36 стр.) Изводи (1стр.) и Приноси (1 стр.) и Литература. Към дисертацията са приложени списък на научните публикации и участие в научни форуми на докторанта. Авторефератът е написан на 47 страници и ясно отразява съдържанието на дисертацията и приносите на проведените изследвания. Целта на дисертацията е убедително аргументирана в светлината на направения литературен обзор. За постигането на тази цел са формулирани пет задачи, които съответстват на целта. По всяка поставена задача е извършена експериментална работа, резултатите от която са представени ясно, много добре са илюстрирани и обсъдени в светлината на известното по съответните въпроси в научната литература. В края на дисертацията са изведени шест извода и са формулирани шест приноса с научен и методичен характер, които ясно и точно отразяват основните резултати от проведените експериментални изследвания.

Не мога да не отбележа в становището си отличните впечатления, които у мен остави дисертационният труд. Той се чете увлекателно, написан е на ясен и точен научен език и е стилово добре издържан.

По-значими научни резултати и приноси от изследванията в дисертацията биха могли да се обобщят както следва:

Установен е различен по степен цитотоксичен ефект на водни и етанолни екстракти от пет местни дървесни вида гъби (*Trametes versicolor*, *Lenzites betulina*, *Fomes fomentarius*, *Fomitopsis betulina* и *Amanita muscaria*) срещу панел от ракови клетъчни линии *in vitro*. От сравнителната оценка на тяхната цитотоксичност е установено, че етанолният екстракт на *A. muscaria* показва най-висока цитотоксичност дори в ниски концентрации срещу клетъчни линии на рак на бял дроб и на рак на простата.

Установено е, че етанолните екстракти от *Amanita muscaria* не съдържат биологично активните съединения иботенова киселина, мусцимол и ергостерол чрез оптимизиране на приложените хроматографските методи (HPLC, UHPL/MS/MS) и електрофоретичен метод (CZE/CCD) за разделяне и охарактеризиране на тези съединения. Така оптимизираните методи биха могли да се използват за разделяне на биологично активни съединения от извлекци на гъби.

Установено е, че етанолният екстракт от *A. muscaria* индуцира образуването на цитоплазмени структури т.нар. стрес-гранули (SGs) в третирани белодробни ракови клетъчни линии, а също така и намалява броя на клетките в S-фаза. Тези изследвания

предполагат, че други вещества съдържащите се в екстракта, действат като стрес фактори на клетката и на нейния отговор към тях.

По темата на дисертацията Александър Душков е представил две научни публикации в списания с отворен достъп, индексирани в база данни на Web of Science, с квартили Q1 и Q4. Общият брой точки от показател Г е 37 (при изискващи се 30 т.), съгласно минималните национални изисквания за ОНС „доктор“. В двете публикации Душков е първи автор, което показва водещото му участие и принос в извършените изследвания и тяхното оформяне. Докторантът е представил своите резултати с участие 4 национални и 3 международни научни форуми.

Заклучение:

Дисертационният труд на Александър Душков представя резултати, които допринасят за разработването на нови противоракови препарати на основата на извлекци от дървесни гъби. В изследването са приложени подходящи хроматографски методи за разделяне, доказване и охарактеризиране на биологично активните съединения, както и анализ на механизма им на действие на клетъчно ниво. Докторантът е овладял широк спектър от експериментални методи и демонстрира способността си да представя научните си изследвания пред академичната общност, което го утвърждава като високо квалифициран млад учен. Дисертационният труд отговаря на всички изисквания на Закона за развитие на академичния състав в Република България и на правилниците за неговото приложение, в т.ч. на вътрешния правилник на ИМБ. Всичко това ми дава основание да дам положителна оценка на проведеното изследване, чиито резултати са подробно представени в дисертационния труд. Убедено препоръчвам на уважаемото научно жури да присъди на образователната и научна степен „Доктор“ на Александър Николаев Душков в област на висше образование 4. Природни науки, математика и информатика, професионално направление: 4.3. Биологически науки, научна специалност „Молекулярна биология“.

12.03.2025 г.

Подпис: ,

/доц. Г. Радева)