

СТАНОВИЩЕ

От: чл.-кор. Евдокия Пашева, д.н.

Относно: дисертационен труд на тема: „Природни ниско токсични биологично активни екстракти от български гъби с фокус върху *Amanita muscaria* – анализ на състава, антитуморна активност и механизъм на действие“ на докторант Александър Душков.

Представената ми за становище дисертация съдържа 117 страници и е богато илюстрирана и онагледена, което спомага за лесния прочит и анализ на резултатите. Библиографската справка включва 248 заглавия. Литературният преглед е изцяло свързан с темата като е изведена на преден план все по-налагащата се тенденция за търсене на противоракови средства сред растителните и гъбни видове като ценен ресурс при избор на терапия. Голямото разнообразие на растителни и гъбни видове от една страна и специфичните начини на въздействие свързани с антиоксидантни, противовъзпалителни и антимикробни свойства на много от тях мотивират научната общност за изследване на нови видове и установяване на антитуморен потенциал. Все още в литературата няма достатъчно информация за антитуморния потенциал на Гъби, което мотивира дисертанта да се насочи към тази тематика.

Поставените цели и задачи са ясно формулирани и логично следват заключенията направени в литературния преглед. За постигане на резултатите в дисертационния труд са използвани съвременни методи, които докторантът е усвоил.

Прави впечатление, че анализът на резултатите се базира изцяло на получения доказателствен лабораторен материал. За определяне на цитотоксичния ефект са използвани разнообразни по вид екстракти на дървесни гъби като тестовете са използвани различни клетъчни култури с

оглед определяне на евентуална селективност. Анализирани са и конкретни вещества, които биха били отговорни за цитотоксичния ефект като невроактивните алкалоиди иботенова киселина (IBO) и мусцимол (MUS) както и ергостерол (ERG). След оптимизиране на хроматографския метод за определяне и съдържанието на трите компонента получените резултати показват, че ERG не присъства в количества, достатъчни да предизвикат цитотоксичен ефект, наблюдаван при MTT тестовете.

Анализирани са и промените в клетката под действието на екстракт от *A. Muscaria*. Установено е наличие на агрегати от новосинтезирана РНК в цитоплазмата на клетките, което е нетипично за нетретираните ракови клетки. Доказано е, че тези структури са т.н. стрес гранули посредством съвпадение на локализацията им със сигнала на FLAG-белязания белтък G3BP1. Тези наблюдения дават основание да се смята, че клетките от линиите A549 и H1299 образуват цитоплазмени SGs при третиране с количества етанол извлек от червена мухоморка, близки до неговата IC₂₅ стойност.

При изследване ефекта на екстракт от *A. Muscaria* върху пролиферативната активност на ракови белодробни клетъчни линии A549 и H1299 и на рак на простата PC3 се получават интересни резултати, които предполагат известна селективност. Намалението на S-фазни клетки при A549 е сравнително по-застъпен в сравнение в H1299. Едно обяснение, което предлага дисертантът за тази разлика е свързано с наличието на повече мезенхимни характеристики при H1299, отсъствие на активен p53 и изразена по-висока пролиферативна активност, което предполага по-слаб ефект на екстракта. Интригуващ е резултатът за PC3. Анализът на броя S-фазни клетки при наличие на екстракт от *A. muscaria* в дози, близки до установените IC₅₀ стойности в среда на клетки от линията PC3 показва, че третирането не довежда до видим или статистически значим спад, което

предполага, че извлекът няма да благоприятства терапията на пациенти, страдащи от рак на простатата.

Изводите и приносите в дисертацията са конкретни и се базират на получените оригинални резултати.

Препоръка: Считам, че дисертационният труд би спечелил, ако в края му бе направена една обобщена кратка дискусия, в която да се анализират и резюмират получените оригинални резултати. Да се обсъди също и какъв потенциал се разкрива за евентуални бъдещи разработки, тъй като темата не е детайлно разучавана до сега и няма много натрупани литературни данни.

Заключение: В научната литература все повече се налага интересът към изучаването на свойствата на растителни екстракти като евентуални антитуморни агенти. Ето защо считам, че избраната тема на дисертационния труд е актуална. За разработването ѝ са приложени съвременни методики, които дисертантът е усвоил и оптимизирал. Изводите от получените оригинални резултати са анализирани аргументирано на базата на експерименталните данни в съчетание с изводите от актуални публикации по темата. Излезли от печат са две статии свързани с дисертацията в Q1(25т.), Q4(12т.), в които дисертантът е първи автор, което недвусмислено показва съществено участие в разработването на проблема.

Всичко изложено до тук ми дава пълното основание най-убедено да препоръчам на уважаемото жури да присъди на дисертанта Александър Душков образователната и научна степен „доктор“.