

До Председателя на Научно жури  
определено със заповед  
№ I-34/29.02.2016 г.  
на Директора на ИМикБ

## РЕЦЕНЗИЯ

По конкурс за заемане на академичната длъжност „Доцент“ по научна специалност „Микробиология“, направление „Биологически науки“ за нуждите на секция „Микология“ при Института по микробиология „Стефан Ангелов“ към БАН (ИМикБ), обявен в ДВ бр. 103/30.12.2015 г. с единствен кандидат гл. ас. Радослав Игнатов Абрашев, дб

**Изготвил:** чл.-кор. Христо Миладинов Найденов, д-р, от Института по микробиология „Стефан Ангелов“ при БАН

Декларирам, че нямам конфликт на интереси между мен и кандидата по смисъла на ал.1, т.3 и 5 от ДР на ЗРАСРБ

**1. Кратки биографични данни и характеристика на научните интереси на кандидата.** Кандидатът за академичната длъжност „Доцент“ гл. ас. д-р Радослав Игнатов Абрашев е завършил висше образование през 1996 г. в Софийския университет «Св. Климент Охридски», Химически факултет, специалност Химична екология. През 2008 г. защитава успешно дисертация и придобива образователната и научна степен «Доктор». Работил е като асистент към ИМикБ, секция «Микология» до 2006 г., а след това и понастоящем като главен асистент в същата секция.

Научните интереси на гл.ас. Абрашев са в областта на микологията и по-конкретно върху филаментозните гъби, клетъчния отговор срещу физиологичния стрес (температура, тежки метали и др.), биомаркери на оксидативния стрес, антиоксидантна защита, биотехнологични подходи за получаване на антиоксидантни ензими, тяхното пречистване, охарактеризиране и приложение. Член е на Съюза на учените в България, секция «Микробиология».

Тези кратки данни ясно очертават профила на д-р Абрашев като надежден изследовател в областта на микологията и ензимологията. Повече от

18 г. години той работи в посочените по-горе области, които и понастоящем са във фокуса на неговите научни търсения и професионални интереси. Той е все по-утвърждаващо се и популярно име не само сред колегите, работещи в посочените области, но и извън пределите на страната – Германия, Великобритания, Италия, Украйна, Египет и др. Това са обстоятелства, които правят участието на д-р Абрашев в обявения от ИМикБ конкурс напълно заслужено и обосновано.

## **2. Общо описание и оценка на представената научна продукция.**

В настоящият конкурс кандидатът участва с общо 28 труда, от които 4 научни публикации по дисертацията за образователната и научна степен „доктор“ и 1 автореферат, които вече са били рецензирани. За оценка по конкурса приемам останалите 23 научни труда (при изискване минимум 20), които се разпределят както следва: журнални статии в списания с импакт фактор (ИФ) – 15, журнални статии в списания без ИФ – 6 и две глави от книги. Особено впечатление правят публикациите в списанията Food Chemistry, Journal of Applied Microbiology, Biochimica et Biophysica Acta, Applied Biochemistry and Biotechnology, и др. От посочените научни труда, в 5 д-р Абрашев е водещ автор, а в 5 е втори автор. Към научните активи на кандидата следва да се добави участието в общо 14 научни форуми, 9 от които международни или с международно участие. Бил е научен ръководител на един докторант и има h фактор 7, при изискване 4.

**3. Оценка на научно-изследователската и научно-приложната дейност.** Изследователската работа на кандидата в продължение на повече от 18 години е съсредоточена основно върху три актуални области на съвременната микробиология и ензимология, а именно: 1) проучване ролята на антиоксидантните ензими в клетъчния отговор срещу физиологичен стрес; 2) тяхното получаване, охарактеризиране и възможното им приложение за здравеопазването и повишаване качеството на живота; и 3) търсене и изпитване на нови терапевтични съединения от растителен произход с антимикробен и антиоксидантен потенциал.

Оксидативният стрес е от ключово значение не само за клетъчната биоенергетика, но и за редица свързани с нея процеси, обуславящи

адаптацията на организмите към екстремните фактори на околната среда, процесите на стареенето на клетките и организмите като цяло и други важни биологични процеси. Теоретичната важност на процесите свързани с оксидативния стрес и доказаното токсично и мутагенно действие на свободните кислородни радикали са в пряка връзка с редица патологични състояния в организма като различните по характер възпалителни процеси, вирусни и бактериални инфекции, множество дегенеративни заболявания като неоплазии, атеросклероза, диабет и други общо над 70 хронични заболявания, в т.ч. . Алцхаймеровата и Паркинсоновата болест. Предвид липсата на еднозначно определяне на ролята на антиоксидантните ензими в клетъчния отговор срещу физиологичен стрес, изследванията на д-р Абрашев в тази насока са много актуални и значими. Резултатите от тези негови проучвания са публикувани в 18 научни труда (№2-7, 10-15, 17-21, 23) и са докладвани на различни научни форуми. С използването на моделни организми – прокариоти (*Vibrio cholerae*) и еукариоти (*Aspergillus niger*, *A. fumigatus*, *A. glaucus*, *Penicillium glaucum*, *P. olsonii*, *Humicola lutea*) е доказана връзката между оксидативния стрес и въздействието с тежки метали, ксенобиотици и температурен шок. При повишаващи се дози на стресовия фактор се установяват и промени в нивата на биомаркерите на стреса – образуване на биомаса, синтез на протеини, активност на ензимите супероксид дисмутаза (СОД), каталаза (КАТ), и др.

Посредством директно измерване на свободните окси радикали (СОР) в условия на пероксиден стрес в клетки на бактерии и гъби се наблюдава инхибиране продукцията на  $\text{O}_2^-$  и рязко повишаване нивото на  $\text{H}_2\text{O}_2$  (№ 7, 23). Морфологични и ултраструктурни изследвания върху моделни щамове демонстрират намаляване на клетъчната биомаса, размера на хифните елементи, анормално септиране, увреждане на митохондриите и ускорена автолиза (№ 2, 5, 14, 20, 21, 23). Повишеното количество на карбонилните групи след оксидативно увреждане на белтъците в третираните клетки, е указание за физиологично неактивни белтъчни молекули (№ 11, 12, 20, 21, 22). Същевременно се наблюдава ускорена синтеза и консумация на резервни въглехидрати (гликоген и трехалоза)(№21, 23).

Оригинални резултати са получени и при изследванията върху участието на антиоксидантните ензими СОД и КАТ в отговора на бактериални и гъбни клетки към оксидативен стрес, индуциран от температурен шок, йони на тежки метали и ксенобиотици (№ 2, 5, 7, 11, 12, 14, 20, 21, 23). За първи път в условия на температурен и супероксиден стрес (въздействие с паракват) е установена индуцирана синтеза на двата ензима в клетки на непатогенни представители от вида *Vibrio cholerae* (серотип non-O1) (№ 5, 7). Големият интерес на кандидата към супероксид дисмутазите, тяхната физиологична роля и терапевтичен потенциал водят до доказване за първи път на промените в изоензимния профил на СОД и КАТ при антарктически гъби, третирани с екстремно ниски температури (№ 23), както и до установяване (също за първи път) на ролята на катаболитната репресия при синтезата на СОД в условията на стрес. Гъбният щам *Humicola lutea* 103 е охарактеризиран като ефективен продуцент на Cu/Zn-СОД, проявяваща протективен ефект срещу инфекция с грипен вирус и миелоиден тумор на Graffi (№ 11).

Оригинални са и получените сравнителни данни за участието на антиоксидантните ензими СОД и КАТ в адаптацията към екстремно ниски температури на щамове филаментозни гъби от различни термални класове (психрофилни и мезофилни), изолирани от Антарктика и от България. Те са несъмнен принос към изясняване молекулните механизми, които са отговорни за преживяемостта в тези условия (№ 23).

При сравнителни изследвания върху суспензионни култури от *Lavandula vera*, растящи в условия на оксидативен стрес е установен баланс в съотношението между ензимните (СОД и КАТ) и не-ензимни компоненти (розмаринова киселина) на антиоксидантната защита при лавандулата, като двойно по-голямо е количеството на посочените компоненти при култивиране в биореактор в сравнение с култивирането в колби и разклащане. Доказана е и строга корелация между нивото на растителната антиоксидантна защита и степента на стреса. Установени са и трите изоензимни форми на СОД (Cu/ZnSOD, FeSOD и MnSOD), като най-висока активност в растителните клетки проявява FeSOD (№4). Обратна е зависимостта обаче между активността на вътреклетъчните ензими СОД и КАТ и нивото на апоптозата при човешки

гранулозо лутеинизирани клетки (GLCs). Ето защо, наличието на високо ниво на антиоксидантни ензими повишава ефекта от *in vitro* оплождането поради наблюдаваната овариална стимулация и по-високата жизненост на ооцитите (№ 6, 10, 17, 18). Този ефект е наблюдаван и след екзогенно добавяне на СОД като важен етап в посочената овариална стимулация, което е важен принос с научно-приложно значение. Протективна роля на извънклетъчната СОД е доказана и при остър и хроничен коронарен синдром. По-високата активност на СОД е причина за късно начало на исхемичната болест на сърцето, по-късното развитие на острите коронарни синдроми и повлиява положително миокардното ремоделиране след миокарден инфаркт (№ 15, 19)

В резултат на задълбочени микробиологични, биохимични и молекулярно-биологични изследвания са получени и охарактеризирани важни ензими изолирани от бактерии и филаментозни гъби. Сред голямото разнообразие от ензими (над 3000 известни понастоящем), д-р Абрашев фокусира своите изследвания върху три от тях, имащи важно медицинско значение – супероксид дисмутаза, каталаза и неураминидаза. Така например, оригинални са данните за повишаване на добива от СОД при култивиране на щам-продуцент *Aspergillus niger* в биореактор след въздействие с краткотраен преходен температурен шок (№ 14). Като продуценти на температурно-чувствителни СОД и КАТ са проучени голям брой щамове филаментозни гъби, изолирани от Българската база на о-в Ливингстън, Антарктика като за някои от щамовете са оптимизирани и условията за ензимна биосинтеза. Така например, максимална ензимна активност се установява в температурния диапазон от 5 до 30 °С и във фазата на интензивно дишане и глюкозна консумация на бактериалната популация (№ 22, 23).

Три от представените труда (№ 9, 13, 16) съдържат резултати от проучвания върху неураминидазата (сиалидаза) в бактериални щамове от род *Vibrio* и *Aeromonas*. Макар и известен като фактор на патогенността и вирулентността, този ензим е изолиран и от непатогенни щамове на *Vibrio cholerae* non-O1, изолирани от природни източници с доказано наличие на *nanH* гена, отговорен за синтезата на ензима в патогенните щамове. За първи път при този вид е установена зависимостта между концентрацията на кислорода и

продукцията на ензима, както и съотношението между извънклетъчната и вътреклетъчната неураминидаза (№ 9, 13). От голямо научно-приложно значение е разработеният нов биотехнологичен процес за получаване на СОД, който осигурява по-висока и ефективна продукция, а именно – добивния коефициент е повишен 2 пъти, ензимната продуктивност с около 30%, а тоталната ензимна активност с 1,6 пъти. За първи път е разработена лабораторна технология за синтеза на температурно активни (СА) ензими от филаментозни гъби – СА СОД и СА КАТ, както и ефективни схеми за пречистване на двата ензима (№ 22, 23). В други две публикации (№ 9, 13), отпечатани в престижни международни списания, се описва нов метод за високоефективна продукция на екстрацелуларен ензим неураминидаза от непатогенен щам на *Vibrio cholerae* non-O1 V13 и получаването му в електрофоретично чист вид. Методът е ценен поради ниската си цена и факта, че се изолира от непатогенен продуцент, което намалява риска при работа в лабораторни условия. Освен това, ензимът е охарактеризиран с класически биохимични и съвременни молекулярно-биологични методи, като е установена неговата гликозилирана и субстратна специфичност.

Сравнително по-нови са и изследванията на кандидата върху антиоксидантната активност на екстракти от растителни и човешки тъкани. Това съвременно направление в биомедицината има за цел получаването на нови терапевтични съединения от растителен произход с антимикробни и антиоксидантни свойства. Определен мултидисциплинарен характер имат изследванията, характеризиращи връзката между антиоксидантната защита и развитието на определени заболявания при човека. Проучванията на д-р Абрашев върху антиоксидантната активност на екстракти и фракции от ендемичното растение *Verbascum xanthophoeniceum* Griseb характеризират индивидуалното съединение от групата на фенилетаноидните гликозиди левкосептозид Б като най-активен компонент. Установените антимикробни и противовъзпалителни свойства са основа за бъдещи изследвания с оглед приложимостта на този ендемичен вид в хранителната, фармацевтичната индустрия и козметиката.

#### **4. Отражение на научната дейност на кандидата в българската и чуждестранната литература.**

Фокусираната научно-изследователска дейност на кандидата върху получаването и охарактеризирането на ензими от бактерии и филаментозни гъби в нормо- и стрес условия, прочване участието им в клетъчния отговор, както и възможностите за приложение е намерила широк отзвук сред научната общественост у нас и в чужбина – забелязани са общо 135 цитирания (при изискване за минимум 20), предимно от чуждестранни автори и в публикации от списания с импакт фактор.

#### **5. Участие в изпълнение на изследователски проекти и договорни задачи.**

Изследователската дейност на кандидата се определя и от участието му в международни и национални проекти, като в редица от тях той е водещ изпълнител. Следва да се подчертае, че д-р Абрашев е работил и продължава да работи активно по впечатляващ брой проекти - общо 18 (при изискване 3), от които 8 международни, 7 национални и 3 стопански.

**Обобщавайки** представените научни трудове, ясно се очертава участието на кандидата в разработването и реализирането на поставените научно-изследователски задачи. Доброто владение и реализиране на класически и съвременни биохимични и молекулярно-биологични методи позволяват получаването на обективни резултати и прецизни сравнителни анализи, благодарение на които са направени значими за обществото научни и научно приложни приноси, голяма част от които са с оригинален характер и за първи път се съобщават в литературата. Активното и ползотворно включване и съвместна работа на д-р Абрашев с редица изследователски колективи не само от България, но и от чужбина (Университета в Тюбинген, Стратклайд университета в Глазгоу и др.) допринася несъмнено за създаване на успешни групи за мултидисциплинарни изследвания и за ефективно партньорство като гаранция за бъдещо сътрудничество и участие в различни национални и Европейски програми. Предвид на актуалността и перспективността на изследователските направления в които работи д-р Абрашев, бих препоръчал

по-голяма преподавателска активност, в т.ч. и обучение на студенти и докторанти.

**ЗАКЛЮЧЕНИЕ:** Представената по-горе цялостна научно-изследователска дейност удовлетворява напълно изискванията на чл. 28 от ЗРАСРБ, както и изискуемите критерии на ИМикБ. Тя е показателна за ефективна и целенасочена изследователска работа, с редица научни и приложни приноси за микробиологията, ензимология и биотехнологията. Това ми дава основание да изразя своята положителна оценка и очертаващия се потенциал за бъдещи изследвания и разработки.

Предлагам на уважаемото научно жури в съответствие с чл. 29 ал.1 от ЗРАСРБ, и член 60 и 61 от Правилника за неговото прилагане да присъди на гл. ас. д-р Радослав Игнатов Абрашев академичната длъжност „Доцент“ по научната специалност „Микробиология“ за нуждите на секция „Микология“ при Института по микробиология „Стефан Ангелов“ към БАН.

22.04.2016 г.

София

чл.-кор. Христо Найденски, д-р