

РЕЦЕНЗИЯ

от проф. д-р Теодора Светославова Ханджиева-Дърленска, д.м.н.

Катедра по фармакология и токсикология, Медицински факултет,

Медицински университет – София

Относно: дисертационния труд на инж. Савета Георгиева Младенова на тема „Изследване на анти-обезогенен потенциал на екстракти от *Alchemilla monticola* Opiz и *Ononis spinosa* L. за контрол на затлъстяване в ин витро и ин виво модели“, представен за присъждане на образователната и научна степен „доктор“, професионално направление 5.11. Биотехнологии, научна специалност „Технология на биологично активните вещества“

1. Общо представяне на процедурата и кандидата

В качеството си на член на научното жури се запознах с представените материали по процедурата за присъждане на образователната и научна степен „доктор“ на инж. Савета Георгиева Младенова. Дисертационният труд е разработен в Института по микробиология „Стефан Ангелов“ при Българската академия на науките, под научното ръководство на проф. д-р Милен Иванов Георгиев.

Дисертационният труд е обсъден и насочен за публична защита от Националния научен семинар по „Приложна микробиология и микробни биотехнологии“ при ИМикБ – БАН на заседание от 19.06.2026 г. Докторантката е отчислена с право на защита със Заповед № I-81/28.05.2026 г. на директора на Института по микробиология „Стефан Ангелов“ – БАН.

Инж. Савета Младенова е магистър инженер-биотехнолог, завършила Химикотехнологичния и металургичен университет – София през 2003 г. Професионалното ѝ развитие е свързано в значителна степен с фармацевтичната и биотехнологичната индустрия. В периода 2018–2022 г. е ръководител на сектор „Развитие и иновации“ в „БУЛ БИО – НЦЗПБ“ ЕООД, където работи по проучвания, свързани с биотехнологични лекарствени продукти, валидиране на методи, статистическа обработка на резултати и подготовка на документация за регулаторни институции. От 2022 до февруари 2026 г. работи като специалист по система за управление на качеството в „Комак Медикал“ ЕООД в областта на клиничните проучвания от I до IV фаза, а от март 2026 г. заема длъжността мениджър „Качество, изследователска и развойна дейност“ в „Си 7 Комерсиал“ ЕООД.

Този професионален опит е особено подходящ за профила на дисертационния труд. Кандидатката съчетава инженерно-биотехнологична подготовка, работа в сферата на фармацевтичното производство, контрола на качеството и клиничните проучвания с експериментална научна работа в областта на биологично активните природни вещества.

От 2024 г. инж. Младенова е докторант в Лаборатория „Метаболомика“ на Института по микробиология – БАН, Пловдив, в професионално направление 5.11. Биотехнологии, научна специалност „Технология на биологично активните вещества“.

2. Актуалност и характеристика на дисертационния труд

Представеният дисертационен труд е посветен на актуален и социално значим проблем – търсенето на нови природни вещества с потенциал за повлияване на затлъстяването и свързаните с него метаболитни нарушения.

Затлъстяването е сложно многофакторно заболяване, при което промените в адипогенезата, липогенезата, енергийния баланс и ендокринната функция на мастната тъкан имат основна патогенетична роля. На този фон разработването на нови подходи, които могат да модулират диференциацията на адипоцитите и натрупването на липиди, представлява направление със значителен научен и потенциален приложен интерес.

Особено подходящ е изборът на два растителни вида – *Alchemilla monticola* Opiz (цариче) и *Ononis spinosa* L. (гръмотрън), както и изследването не само на комплексните им екстракти, но и на отделни идентифицирани вторични метаболити. По този начин дисертационният труд надхвърля традиционното описание на биологична активност на растителен екстракт и се стреми да изясни конкретни клетъчни и молекулярни механизми на действие.

Дисертационният труд е разработен върху 108 страници, онагледен е с 24 фигури и 7 таблици. Библиографията съдържа 223 литературни източника. Структурата е логична и включва въведение, цел и задачи, материали и методи, резултати, дискусия, изводи и приноси.

Целта е ясно формулирана – да се изследва влиянието на екстракти от *A. monticola* и *O. spinosa* и техни вторични метаболити върху адипогенезата и натрупването на липиди в ин витро модел на човешки адипоцити и да се валидират най-значимите резултати в ин vivo модел с *Caenorhabditis elegans*. За изпълнението на тази цел са поставени шест конкретни задачи, които включват фитохимично охарактеризиране чрез ЯМР-базирано метаболитно профилиране, *in silico* молекулен докинг, изследване на анти-адипогенния ефект на екстракти и индивидуални съединения в човешки адипоцити, анализ на молекулярните механизми и валидиране на ефекта на маакияин в организмов модел.

3. Материали, методи и експериментален подход

Много важна черта на дисертацията е използването на комплексен методологичен подход, който обединява фитохимични, биоинформатични, клетъчни, молекулярно-биологични и организмови методи. Растителните екстракти са охарактеризирани посредством ЯМР-базирано метаболитно профилиране. При екстракта от *A. monticola* са установени редица флавоноиди и други метаболити, включително астрагалин, катехин, кверцетин, кверцитрин, изокверцетин, рутин, витексин и ванилова киселина. При *O. spinosa* са идентифицирани, между другото, ононин и маакияин, които са включени в последващите функционални експерименти.

Молекулярният докинг е използван за оценка на потенциалното взаимодействие на избраните метаболити с ключови белтъчни структури, участващи в адипогенезата и метаболитната регулация – PPAR γ , C/EBP α , PI3K, AKT и AMPK.

За клетъчен модел са използвани човешки SGBS преадипоцити. Това е важно преимущество, тъй като използването на човешки адипоцити увеличава биологичната релевантност на получените резултати. Оценени са клетъчната жизнеспособност,

натрупването на липиди чрез Oil Red O, липолизата чрез определяне на свободен глицерол, генната експресия чрез RT-qPCR и протеиновата експресия чрез immunoblot анализ.

За валидиране на част от резултатите на организмово ниво е използван модел на глюкозо-индуцирано натрупване на липиди при *C. elegans*. Изследвани са липидното натрупване, двигателната активност, жизнеспособността и експресията на гени, участващи в енергийния и липидния метаболизъм. Като референтно анти-обезогенно средство е използван орлистат.

Подборът на методите е подходящ за поставените цели и позволява резултатите от различните нива на изследване да бъдат съпоставени.

4. Основни резултати и научна стойност

Резултатите от дисертационния труд са разнообразни и в значителна степен последователно надграждат отделните експериментални етапи. При *A. monticola* е установена значима анти-адипогенна активност в човешки адипоцити. Екстрактът намалява натрупването на липиди и повишава базалната липолиза. Молекулярните изследвания показват потискане на PI3K/AKT сигналния път и негативно регулиране на ключовите фактори на адипогенната диференциация PPAR γ и C/EBP α . Наблюдавано е и понижаване на експресията на ADIPOQ, SREBP1, ACC и FASN, което подкрепя ефекта върху адипогенезата и липогенезата.

Интерес представляват резултатите за отделните активни компоненти на *A. monticola*. Кверцитринът значително намалява липидното натрупване. При астрагалина е наблюдаван двупосочен концентрационно зависим ефект върху PI3K/AKT сигналния път, като критичният диапазон за промяна на ефекта е между 10 и 25 μ M.

При изследването на *O. spinosa* се установява по-сложна картина. Самият екстракт не показва идентичен на индивидуалните компоненти анти-адипогенен ефект, докато изолираните метаболити ононин и маакияин показват значителна активност. Ононинът намалява натрупването на липиди и повлиява молекулярни таргети, включително PI3K и PPAR γ . Предложеният механизъм включва повишаване на SIRT1 и последващо инхибиране на PPAR γ .

Особено интересни са данните за маакияин. При човешките адипоцити той намалява натрупването на липиди по концентрационно зависим начин, като при изследваните концентрации е достигнато понижение до около 55% от контролните стойности при най-високата концентрация. Данните показват, че маакияин инхибира адипогенезата чрез PPAR γ /C/EBP α сигнализирането и потиска липогенезата посредством SREBP1 и регулираните от него липогенни гени.

Тази част от работата е допълнително валидирана при *C. elegans*. Установено е, че маакияин активира сигнални пътища, свързани с калорийното ограничение, енергийния разход и липидния метаболизъм, включително aak-2/sir-2.1 и nhr-49/mdt-15. Отчетено е повишаване на двигателната активност на нематодите, което също подкрепя възможността за увеличен енергиен разход. В експерименталния модел действието на маакияин показва благоприятен анти-обезогенен профил и в някои показатели превъзхожда използвания референтен препарат орлистат.

5. Научни приноси

Приемам формулираните от докторантката приноси като реални и подкрепени от представените експериментални данни.

Към основните научно-фундаментални приноси бих отнесла:

1. Установяването на анти-адипогенен потенциал на екстракт от *Alchemilla monticola* при човешки адипоцити и определянето на участието на неговите компоненти астрагалин и кверцитрин.
2. Изясняването на ролята на PI3K/АКТ сигналния път и PPAR γ при анти-адипогенния ефект на *A. monticola*.
3. Установяването на двупосочен, концентрационно зависим ефект на астрагалин върху PI3K/АКТ сигнализирането.
4. Получаването на нови данни за анти-адипогенната активност на ононин и предложение за механизъм, включващ активиране на SIRT1 и инхибиране на PPAR γ .
5. Доказването на анти-адипогенен и антилипогенен ефект на маакияин чрез PPAR γ /C/EBP α и SREBP1-зависими механизми.
6. Валидирането за първи път на потенциала на маакияин да повлиява липидния метаболизъм на организмово ниво при *C. elegans*.
7. Установяването на ефекта на маакияин върху сигналните пътища aak-2/sir-2.1 и nhr-49/mdt-15, което подкрепя хипотезата за действие, наподобяващо ефекта на калорийното ограничение.

Като научно-приложен принос може да се посочи очертаният потенциал на маакияин като природно биологично активно съединение, което би могло да бъде обект на бъдещи предклинични изследвания в областта на контрола на затлъстяването и метаболитните нарушения.

Настоящите резултати са предклинични и не позволяват директно заключение за приложение при хора, но дават добра експериментална основа за последващи изследвания.

6. Публикационна дейност и научна активност

Резултатите от дисертационния труд са представени в три научни публикации, във всички от които инж. Савета Младенова е първи автор. И трите статии са публикувани в международни списания от първи квартал – Q1:

- *International Journal of Molecular Sciences* – работа върху ефекта на маакияин и имитирането на калорийна рестрикция чрез aak-2-медирано понижаване на липидите при *C. elegans*;
- *Biomedicine & Pharmacotherapy* – работа върху анти-адипогенната активност на маакияин и ононин и участието на PPAR γ при човешки адипоцити;

- *Frontiers in Pharmacology* – работа върху анти-адипогенния ефект на *Alchemilla monticola* чрез инхибиране на PI3K/AKT сигнализирането в човешки адипоцити.

Общият импакт фактор на трите публикации е 18.388. Съгласно представената справка публикациите на кандидатката имат 63 цитирания без автоцитирания в Scopus към 18.06.2026 г. Този показател е особено добър за докторант и показва, че получените резултати вече са намерили отзвук в международната научна литература.

Кандидатката има и шест участия в научни конференции и конгреси, с устни и постерни презентации на резултати в областта на природните продукти, адипогенезата и метаболитните нарушения.

Научните изследвания по дисертационния труд са осъществени и с подкрепата на проект PlantaSYST по програма „Хоризонт 2020“ и на проект, финансиран от Европейския фонд за регионално развитие чрез ОП „Наука и образование за интелигентен растеж“, което показва включването на разработката в по-широка съвременна научна инфраструктура.

Публикационната активност на инж. Младенова не само покрива изискванията за придобиване на образователната и научна степен „доктор“, но по качество на списанията, авторска позиция и цитируемост ги надхвърля убедително.

7. Критични бележки и препоръки

Към дисертационния труд могат да бъдат отправени някои бележки, които не намаляват неговата обща научна стойност.

Препоръката ми е по-стегнато представяне на големия обем експериментални резултати и от по-ясно разграничаване между доказан механизъм и механизъм, предложен въз основа на асоциации между отделните молекулярни показатели.

При някои от резултатите, особено тези за комплексните растителни екстракти, е важно да се има предвид, че биологичният ефект вероятно е резултат от взаимодействието на множество компоненти. Ето защо екстраполирането на резултатите от отделните метаболити към действието на целия екстракт трябва да бъде предпазливо.

Бих препоръчала при бъдещо развитие на темата потвърждаване на най-интересните резултати, особено тези за маакияин, в допълнителен експериментален модел на затлъстяване, последвано от фармакокинетични и токсикологични изследвания. Това би било логична следваща стъпка към оценка на реалния транслационен потенциал на съединението.

8. Заключение

Дисертационният труд на инж. Савета Георгиева Младенова представлява завършено, съвременно и оригинално научно изследване. Темата е актуална, експерименталният дизайн е комплексен, а използваните методи позволяват анализ на ефектите на изследваните природни продукти на различни нива – от химичното профилиране и *in silico* моделирането до човешки адипоцити и цял организъм.

Особено високо оценявам съчетаването на различни методологични подходи и опита за изясняване не само на наличието на анти-обезогенна активност, но и на молекулярните

механизми, които стоят зад нея. Получените резултати имат научно-фундаментален характер, но същевременно очертават възможности за бъдещи приложни разработки.

Научната продукция по дисертацията е на много добро международно ниво – три публикации в Q1 списания, във всички от които кандидатката е първи автор, общ импакт фактор 18.388 и значима цитируемост.

На основата на представените материали считам, че дисертационният труд отговаря на изискванията на Закона за развитие на академичния състав в Република България, Правилника за неговото прилагане и съответните нормативни изисквания за придобиване на образователната и научна степен „доктор“.

Давам своята категорично положителна оценка на дисертационния труд и препоръчвам на уважаемото научно жури да присъди на инж. Савета Георгиева Младенова образователната и научна степен „доктор“ в професионално направление 5.11. Биотехнологии, научна специалност „Технология на биологично активните вещества“.

31 август 2026 г.

София

проф. д-р Теодора Светославова Ханджиева-Дърленска, д.м.н.