

СТАНОВИЩЕ

От проф. Магдалена Спасова Кондева-Бурдина, дф, ЕРТ
Катедра “Фармакология, Фармакотерапия и Токсикология“,
Фармацевтичен факултет при МУ-София

ОТНОСНО: дисертационен труд на тема: „*Механизми на модулиране процесите на затлъстяване при ин витро модел на човешки адипоцити чрез прилагане на биологично-активни молекули*“, представен за защита за присъждане на образователна и научна „Доктор“ по направление 5.11. Биотехнологии (Технология на биологично-активните вещества), на маг.-фарм. **Мартина Стоянова Савова**, с научен ръководител: проф. д-р **Милен Георгиев**.

На основание Заповед № I-64/29.05.2023 г., съм определена да изготвя становище според изискванията на Закона за развитие на академичния състав в Република България и Правилника за условията и реда за придобиване на научни степени и за заемане на академични длъжности в ИМикБ-БАН.

Кратки биографични данни

Образование

Мартина Стоянова Савова завършва висше образование “Магистър по Фармация“ през 2019 г. във Фармацевтичен факултет при МУ-Пловдив.

Научна продукция

Автор и съавтор е в 176 публикации.

Участва като изследовател в 3 международни проекта.

Има 14 участия в научни конференции и конгреси.

H-Index = 7 – ИЗКЛЮЧИТЕЛНО ВПЕЧАТЛЯВАЩ ЗА ДОКТОРАНТ.

Трудов стаж

2019-досега – Работи като биолог в Център по Растителна Системна Биология и Биотехнология.

Актуалност на темата

Разпространението на затлъстяването достига епидемични размери през последните десетилетия, което обуславя и повишена честота на съпътстващите го заболявания, като диабет тип 2, атеросклероза, хипертония, дислипидемия и съответстващо увеличение в разходите за здравеопазване.

Съвременните препоръки за контрол на затлъстяването включват на първо място промени в начина на хранене и двигателния режим. Силно-ограничаващите на калориен прием диети обаче често представляват голямо предизвикателство за пациентите в дългосрочен план и след връщането към нормален калориен прием, организмът навакхва загубеното тегло. Комбинирането на промени в начина на живот с лекарствена терапия подпомага процеса на намаляване на теглото. Одобрените анорексигенни средства, с които разполага медицината понастоящем са ограничени както като брой, така и като механизъм на действие. Революционно, по отношение на постигната загуба на тегло, е въвеждането през 2020 г. в употреба на инкретиновите миметици (първоначално разработени за диабет тип 2) и по-специално glucagon-like peptide-1 (GLP-1) рецепторния агонист семаглутид. Въпреки високата ефективност, която показва семаглутид при пациенти със затлъстяване, по отношение на метаболитния профил и индекса на телесна маса (ИТМ), се оказва, че има значителен процент пациенти, които не отговарят на тази биологична терапия. Следователно, откриването на безопасна и ефективна терапия срещу затлъстяване е от изключителна необходимост, като се вземат предвид сериозните недостатъци и неблагоприятни странични ефекти, придружаващи одобрените до момента лекарствени средства.

Структура на дисертационния труд

Представеният ми за становище дисертационен труд е структуриран съгласно изискванията на Закона за развитие на академичния състав и има всички качества, ДАЖЕ ГИ НАДХВЪРЛЯ, на завършен научен продукт.

В **литературния обзор** се разглежда в детайли проблематиката, свързана с ключовата роля и модулирането на основни сигнални пътища, свързани с адипогенезата, енергийния метаболизъм, междуклетъчната и вътреклетъчната комуникация като възможен нов подход за превенция на наднорменото тегло и затлъстяването. Сред потенциалните молекулярни мишени за повлияване на затлъстяването са главните адипогенни транскрипционни фактори – ССААТ/enhancer-binding protein alpha (C/EBP α) и peroxisome-proliferator activated receptor gamma (PPAR γ), както и регулираните от тях

молекулярни участници в липогенезата като sterol regulatory binding protein 1 (SREBP1), fatty acid synthase (FASN) и acetyl-CoA carboxilase. В допълнение, стимулирането на липолизата, е паралелен механизъм, чрез който може да се контролира наднорменото тегло. Друг ключов сигнален път е този на phosphoinositide 3 kinase (PI3K)/protein kinase B (AKT) каскадата, който участва в множество клетъчни функции, включително диференциация и инсулин-стимулирано усвояване на глюкоза в адипоцитите.

Целта на работата е ясно и конкретно формулирана и произтича от заключенията на литературния обзор. За постигането на целта са формулирани 7 конкретни задачи.

Методичният набор включва голямо разнообразие от съвременни *in vitro/in vivo* методи като:

- ЯМР-базирано метаболитно профилиране;
- Полимеразна верижна реакция в реално време на иРНК и микро РНКи;
- Western blot анализ на основни транскрипционни фактори, участващи в липолизата;
- Конфокална флуоресцентна микроскопия;
- *In vivo* модел на изучаване на фенотипа и липидното натрупване при затлъстяване в нематоди от вида *Caenorhabditis elegans*;

което дава възможност за висока надеждност на получените резултати.

Създаването на този *in vivo* модел на затлъстяване върху нематоди от вида *Caenorhabditis elegans* е в съответствие с изискванията за намаляване броя на експерименталните животни, т. нар. правило на 3R (reduce, replace, refine).

Резултатите са с оригинален характер, надлежно, коректно и изчерпателно онагледени. Целта е изпълнена успешно и на изключително високо научно ниво.

Получените резултати установяват в детайли ефекта на растителни екстракти и техни метаболити от *Polygonum aviculare*, *P. hydropiper* и *Z. jujuba* върху функцията и физиологията на мастните клетки, като основни структурни единици на мастната тъкан, и модулиране на възпалителния им отговор. Разработена е констелация от методи и модели, която позволява разкриване възможния молекулярен механизъм на действие на изследваните растения, техните екстракти и метаболити. Резултатите от проведените в настоящия труд експерименти, за първи път предоставят данни за механизма на действие на екстракт от листа на хинап в модел на затлъстяване при човешки адипоцити. Инхибирането на PI3K/AKT сигнален път е идентифициран като основен молекулярен механизъм на ефекта на екстракта от хинап, апигенин и бетулинова киселина върху адипогенезата. Освен това наблюдаването повлияване на експресията на PPAR γ и C/EBP α при третирането с екстракт от хинап и избрани молекули, показва участието на

тези транскрипционни фактори в механизма на действие на установения анти-адипогенен ефект. В заключение, дисертантката изгражда и успешно защитава хипотезата, че всички изследвани растителни вторични метаболити (апигенин, бетулинова и маслинова киселини) участват в анти-адипогенния ефект чрез PI3K/AKT сигнализирането, което се явява техен общ молекулярен механизъм.

В **обсъждането** на получените резултати, дисертантката е успяла да обобщи получените данни и да ги сравни с наличните в литературата.

Изводите са изложени стегнато и съответстват на поставените цел и задачи. Те отразяват напълно резултатите от проучванията.

Съгласна съм с направените **приноси**, а именно:

✓ С научно-фундаментален характер:

1. Установена е анти-адипогенната активност на екстракти от листна маса от *Z. jujuba* и надземни части от *P. aviculare* и *P. hydropiper* в *in vitro* модел на затлъстяване при човешки адипоцити.
2. Определени са молекулярните пътища, участващи в механизма на анти-адипогенно действие на апигенин, бетулинова и маслинова киселина в адипоцити.
3. Охарактеризиран е ефекта на розмаринова киселина при SGBS адипоцити върху адипогенеза и липолиза, както и върху експресията на възпалителни фактори по време на адипоцитната диференциация.
4. Доказано е, че инхибиторният ефект върху липидните депа при приложение на бетулинова киселина (10 μ M) е свързан със стимулиране на експресията на p19^{Arf} и p53, докато в концентрация от 50 μ M бетулиновата киселина повлиява гени, свързани с липидната хидролиза и действието на десатуразите при *C. elegans*.
5. Установен е ефектът на бетулинова киселина върху експресията на микроРНКи, чиито таргетни гени, участват в процесите на липолиза и липогенеза при *C. elegans*.

✓ С научно-приложен характер:

1. Въведен и оптимизиран е *in vitro* модел на адипоцитна диференциация като скринингова платформа за анти-адипогенен потенциал на растителни екстракти и природни молекули.
2. Адаптиран е модел за изучаване на фенотипа и липидното натрупване при затлъстяване в нематоди от вида *C. elegans*, който представлява *in vivo* платформа за оценка на анти-обезогенния потенциал на молекули с различен произход.

3. Получените данни за молекулярния механизъм на действие на бетулиновата киселина, могат да послужат като основа за разработване на продукт(и) за контрол на телесното тегло и профилактика на затлъстяването

Бих искала да изразя отличното си впечатление от детайлния дизайн на проучването и от цялостния прочит на разработката, което потвърждава личния принос на дисертантката към настоящият труд. Дисертационният труд представлява логично планирано и компетентно осъществено научно изследване.

Прави впечатление, че дисертантката е приложила 6 научни публикации, свързани с дисертационния труд, от които 4 са в списания с импакт фактор и Q1, като при 3, импакт фактора е над 7. Това многократно надвишава количествените критерии за придобиване на образователна и научна степен „ДОКТОР“.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Разработката на маг.-фарм. Мартина Стоянова Савова е завършен дисертационен научен труд, НАДВИШАВАЩ изискванията на Закона за развитие на академичния състав в Република България. Разработеният проблем е много актуален, научно-обоснован и дисертабилен. Оформените резултати и изводи от изследванията са със значим научен принос.

Въз основа на гореизложеното давам отлична оценка на разработката и гласувам ПОЛОЖИТЕЛНО за присъждането на образователната и научна степен „ДОКТОР“ по направление 5.11. Биотехнологии (Технология на биологично-активните вещества), на маг.-фарм. Мартина Стоянова Савова.

11.07.2023 г.

Гр. София

Подготвил становището:

/проф. Магдалена Спасова Кондева-Бурдина, дф, ERT/