РЕЦЕНЗИЯ

от доц. Петя Асенова Димитрова, Лаборатория по експериментална имунотерапия, Департамент по имунология, Институт по микробиология "Стефан Ангелов"

избрана за член на Научното жури със Заповед I-№ I – 98/30.06.2026 г. от Директора на Институт по микробиология, БАН и за рецензент от Научното Жури с Протокол №8/30.06.2026 г.

за защита на дисертационен труд за присъждане на образователната и научна степен 'Доктор'

Дисертационен труд с автор: инж. **Савета Георгиева Младенова,** докторант в Лаборатория „Метаболомика", Департамент по Биотехнология, Институт по микробиология
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
Научен ръководител: проф. д-р Милен Иванов Георгиев
Професионално направление: 5.11. Биотехнологии (Технология на биологично-активните вещества)

1. Общо описание на представените материали

Авторът на дисертационния труд **Савета Георгиева Младенова** е докторант в свободна форма на обучение към Лаборатория по метаболомика на Департамент „Биотехнология", Институт по микробиология, БАН, с научен ръководител проф. Милен Георгиев. Тя е представила дисертационен труд, на хартиен носител и в електронен вариант, и съответните документи, според изискванията на Правилника за развитие на академичния състав на ИМикБ, БАН, а именно: заявление за допускане до защита, копие от завършена магистърска степен, заповед за зачисляване, протоколи от изпити и курсове по специалността, справка за кредитите, справка според минималните изисквания на ЗРАСРБ и допълните изисквания на ИМикБ, БАН, протокол и предварителна рецензия от предзащита, автореферат, списък на публикациите, декларация за оригиналност и автобиография.

2. Актуалност на тематиката

Според определението на СЗО затлъстяването е „състояние, при което се установява натрупване на мазнини", с достигане на индекс на телесна маса (BMI) по-висок от 30 кг на м^2. Също според статистиката 1 на 8 човека са със затлъстяване, като честотата му е четирикратно повишена от 1990 г, като само в САЩ достига ръст от 38%. Според Националният център по обществено здраве и анализи: „България е на 6-то място в Европейския съюз по ниво на затлъстяване, по данни от 2019 г. Факторите са много: нездравословно хранително поведение - висок прием на наситени мастни киселини, висока консумация на тестени и захарни изделия; ниска консумация на пълнозърнести храни, плодове и зеленчуци; ниска физическа активност и др." (Проф. д-р проф. д-р Веселка Дулева[1])

[1]България е една от страните с най-високи нива на затлъстяване в Европейския съюз).

Най-критичната статистика касае подрастващото население със затлъстяване, което включва 160 милиона регистрирани деца с това състояние (Di Cesare et al., 2019[2]). Многобройни изследвания показват, че болестта е съпроводена с по-висока честота на заболявания, като диабет и сърдечно-съдови заболявания (вкл. инфакт), стеатоза и чернодробна дисфункция. Има и доказателства, че противовъзпалителните отговори при пациенти със затлъстяване често са компроментирани или корелират с тежестта на протичане на съпътстващи инфекциозни заболявания (Nyberg S. et al., 2026[3]) и рак (Calle et al., 2003[4]) и са причина за повишена смъртност. Това показва, че здравният проблем на затлъстяването за обществото и здравната система е по-висок от описания. В този аспект всяко ново изследване на затлъстяването е от съществено значение, както за нови начини на ранна диагностика, така и за прилагане на нови терапевтични подходи и мониторинг на болестта.

Основният механизъм в патогенезата на заболяването включва мастни депа в адипоцитите, с последваща хипертрофия и хиперплазия на адипоцитите, но могат да се проявят едновременно и допълнителни дисфункции, като анормален инсулинов сигнален път и инсулинова резистентност, нервно-хормонална дерегулация с лептинова резистентност и промяна в хормона на глада – гренлин, интензивно натрупване на мазнини в тъканите. Основните сигнални пътища включват тези през митоген-активираните протеин кинази (MAPK, вкл. ERK1/2, JNK, p38 MAPK), и трансдукция през PI3K/AKT, JAK/STAT, TGF-β, AMPK, Wnt/β-catenin, регулиращи апетита, метаболизма в мастната тъкан, хомеостазата на глюкозата, и изразходването на енергия (rev. Wen et al., 2022[5]). Тъй като заболяването е хетерогенно, механизмите могат да се разделят на такива с анти-обезогенен ефект (термогенеза, липолиза и хипофагия) и про-обезогенен ефект (възпаление в мастната тъкан, инсулиновата резистентност и адипогенезата).

Поради засягането на множество сигнални пътища и механизми, терапията на заболяването е свързана с използването на повече от 20 различни агониста или инхибитори, които таргетират специфични сигнални пътища. При повечето от тях са установени странични ефекти и затова, търсенето на нови подходи остава необходимост, както и се залага все по-често са източник на биологично-активни молекули, изолирани от растения. В този аспект дисертацията е особено значима, тъй като предоставя хипотеза и доказателства за нов терапевтичен подход, насочен към ключови сигнални пътища, активирани в адипоцитите и при затлъстяване.

3. Целесъобразност на поставените цели и задачи

В дисертацията на Савета Младенова е поставена една ясна и добре формулирана цел, а именно да се изследва фармакологичният потенциал на екстракти от *Alchemilla monticola* Opiz (цариче) и *Ononis spinosa* L. (гръмотрън) и техни вторични метаболити върху адипогенезата и натрупването на липиди при човешки адипоцити, диференцирани *ин витро* и последващо валидиране на най-значимите резултати, демонстриращи анти-обезогенен потенциал при *Caenorhabditis elegans ин виво*.

За реализиране на целта са поставени 6 задачи, които следват последователни експериментални стъпки – задълбочено търсене в наличните бази, основано на данни за

---

[2]Di Cesare, M., Sorić, M., Bovet, P., Miranda, J. J., Bhutta, Z., Stevens, G. A., Laxmaiah, A., Kengne, A. P., & Bentham, J. (2019). The epidemiological burden of obesity in childhood: a worldwide epidemic requiring urgent action. *BMC medicine*, *17*(1), 212. https://doi.org/10.1186/s12916-019-1449-8.

[3]Nyberg, S. T., Frank, P., Ahmadi-Abhari, S., Pentti, J., Vahtera, J., Ervasti, J., Suominen, S. B., Strandberg, T. E., Sipilä, P. N., Meri, S., Sattar, N., & Kivimäki, M. (2026). Adult obesity and risk of severe infections: a multicohort study with global burden estimates. Lancet (London, England), 407(10532), 951–962. https://doi.org/10.1016/S0140-6736(25)02474-2.

[4]Calle, E. E., Rodriguez, C., Walker-Thurmond, K., & Thun, M. J. (2003). Overweight, obesity, and mortality from cancer in a prospectively studied cohort of U.S. adults. *The New England Journal of Medicine*, *348*(17), 1625–1638. https://doi.org/10.1056/NEJMoa021423.

[5] Wen, X., Zhang, B., Wu, B., Xiao, H., Li, Z., Li, R., Xu, X., & Li, T. (2022). Signaling pathways in obesity: mechanisms and therapeutic interventions. *Signal transduction and targeted therapy*, *7*(1), 298. https://doi.org/10.1038/s41392-022-01149-x.

традиционното прилагане на растенията и екстракти и извлеци от тях при затлъстяване и при други метаболитни състояния с установена дисфункция и патология; подбор на растения за включване в изследването и подбор на евентуални метаболити с биологична активност; получаване на екстракти от подбраните растения, анализ на съдържанието на метаболити в екстракта от подбрани растения; ин силико анализ за потенциални взаимодействия на метаболити с таргетни молекули от сигнални пътища, изследване на анти-адипогенния потенциал *ин витро* при диференцирани човешки Simpson-Golabi-Behmel Syndrome (SGBS) адипоцити и доказване на действието им върху таргетирания сигнален път; и валидиране на наблюдавания ефект във *ин виво* при модел на глюкозо-предизвикано натрупване на липиди и хемотаксис при *Caenorhabditis elegans*.

Прави отлично впечатление, че моделните системи *ин витро* и *ин виво* са подбрани внимателно и адекватно – например използването на адипоцити, диференцирани от SGBS клетки се счита за универсален съвременен подход за изучаване на адипогенезата, инсулинова чувствителност, възпалителния отговор и продукцията на адипокини (Tews et al., 2022[6]). Генетично податливи организми, като *Caenorhabditis elegans* са мощни инструменти за изследване на фундаментални молекулярни механизми, които управляват функциите на мастната тъкан (Mora et al., 2024[7]).

4. Познаване на проблема

Савета Младенова е изготвила подробна литературна справка на съвременните изследвания по проблема, като е представила описание на биологичната активност, употреба и фитохимична характеристика на *Alchemilla monticola* Opiz (цариче) и *Ononis spinosa* L. (гръмотрън). По-подробно се е спряла на патологичното разрастване на мастната тъкан и роля в затлъстяването, експерименталните модели на затлъстяване и подходите за контрол и терапия на затлъстяването. Обзорът е онагледен с 5 фигури. Добро впечатление прави фигура 5, където са описани ключовите сигнални пътища повлияващи адипогенезата - WNT/β-Catenin, Insulin/AKT, Hedgehog (Hh) сигнализиране и BMP/SMAD4 път, както е посочена ключовата връзка с комплекса PPARγ/C/EBPα. В литературния обзор са цитирани статии, както от по-стари източници, така и публикувани в периода 2020-2026 – повечето от цитатите, което показва стремеж за всеобхватно обхващане на проблема от докторанта. Използването на различни експериментални подходи в докторската дисертация осигурява основа за висококачествени резултати и съобразено с тях обективно обсъждане.

5. Методика на изследването

Савета Младенова прилага в дисертацията съвременни подходи и разнообразна методология, а именно получаване на растителни екстракти, фитохимичен анализ на екстракти, използване на метаболитно профилиране на база ЯМР спектроскопия, ин силико докинг анализ, клетъчно култивиране на SGBS пре-адипоцити и диференциране им, анализ на количественото им натрупване, RT-PCR за количествено определяне на експресията на панел от гени свързани със ниско-степенно възпаление и адипоцитни сигнални пътища, имуноблот за идентифициране на сигнални молекули и количествено определяне на модел на глюкоза-индуцирано натрупване на липиди при нематоди чрез оцветяване на натрупаните липиди и функционално

---

[6] Tews, D., Brenner, R. E., Siebert, R., Debatin, K. M., Fischer-Posovszky, P., & Wabitsch, M. (2022). 20 Years with SGBS cells - a versatile in vitro model of human adipocyte biology. *International journal of obesity (2005)*, *46*(11), 1939–1947. https://doi.org/10.1038/s41366-022-01199-9

[7] Mora, I., Puiggròs, F., Serras, F., Gil-Cardoso, K., & Escoté, X. (2024). Emerging models for studying adipose tissue metabolism. *Biochemical pharmacology*, *223*, 116123. https://doi.org/10.1016/j.bcp.2024.116123

охарактеризиране на промените при нематодите – като жизненоспособност, двигателна активност и хемотаксис.

Използваните методи са коректно описани, така че да могат да се повторят, включени са съответни контроли. Това показва добро методологично ниво, постигнато от докторанта, и умения за внимателно планиране на експерименталната работа. Статистическите методи, са адекватни и гарантират повторяемост на получените данни.

6. Характеристика и оценка на дисертационния труд

Дисертационния труд има структура според изискванията на Правилника за развитие на академичния състав на ИМикБ, БАН, а именно съдържа следните глави: Заглавие; Използвани съкращения; Увод; Литературен обзор; Цели и задачи; Материали и методи; Резултати и дискусия с 15 фигури; Дискусия с 4 обобщени фигури; Заключение; Изводи и Приноси; Литературни източници – с над 140 източника, над 51% от които в периода 2020-2026.

Получените резултати демонстрират ефекта на растителните екстракти от *Alchemilla monticola* Opiz и *Ononia spinosa* L. върху функцията на адипоцити включително върху експресията на панел от фактори, свързани с поддържане на нискостепенно възпаление. Установено е, че екстрактът от *Alchemilla monticola* Opiz потиска PI3K/AKT сигналния път и регулира негативно PPARγ и C/EBPα, намалява експресията на гените за адипонектин *ADIPOQ* и транскрипционен фактор *SREBP* (свързващ се със стерол-регулаторни елементи) и на липогенни гени *ACC* (кодиращ ацетил-КоА карбоксилаза) и *FASN* (кодира ген ензима синтаза, регулиращ *de novo* синтеза на мастните киселини) в човешки адипоцити. Проследени са ефектите на метаболитите астрагалин (AST) и кверцитрин (QUE), идентифицирани в екстракта от *Alchemilla monticola* Opiz. Анти-адипогенният ефект на AST е по-скоро свързан с директно взаимодействие с C/EBPα или PPARγ, отколкото с модулация на PI3K сигнализирането. Освен това AST показва двупосочно действие върху PI3K при ниски и високи концентрации. QUE повлиява положително нивата на C/EBPα и адипонектин, като слабо инхибира PPARγ, което показва различен ефект върху сигнализирането в сравнение с AST, но демонстрира анти-адипогенен потенциал, свързан и вероятно определящ този на екстракта от *Alchemilla monticola* Opiz.

В дисертацията се изследва и анти-адипогенния ефект на екстракт от корени на *O. spinosa* и негови вторични метаболити – Ононин (ONON) и Маакияин (MACK). Екстрактът за разлика от двата метаболита не потиска значимо адипогенната диференциация и не засяга драстично по-късната фаза, свързана с липогенеза. ONON и MACK потискат PI3K, но тяхното действие вероятно се дължи на ефект върху транскрипцията и стабилността на иРНК и нивото на протеините от сигналните пътища. ONON потиска адипогенезата чрез стимулиране на SIRT1 и инхибиране на PPARγ, докато MACK действа върху PPARγ сигнализирането и потиска SREPB1-зависимата липогенеза. В дисертацията е установено, че MACK повишава транскрипцията на *aak-2, sir-2.1, mdt-15, nhr-49, cebp-2* и *sbp-1*, свързани с калорийна рестрикция и ремоделиране на митохондриалните функции при *C. elegans*. Този ефект не е медииран през AMPK, а вероятно се наблюдава поради понижение на протеиновото ниво на AAK-2 и потискане на микроРНКи *miR-60* и *lin-4*, свързани с контрол върху липидния обмен при нематодите. Тези ефекти на MACK се „обръщат" от едновременното приложение на липазен инхибитор орлистат с MACK.

7. Приноси и значимост на разработката за науката и практиката

Приемам направените изводи в дисертацията, както и подкрепям формулираните приноси. Бих обобщила, че значимостта на работата се дължи на:

- За първи път е охарактеризирана анти-адипогенната активност на метаболити от екстракт от *Alchemilla monticola* Opiz (цариче) и анти-обезогенна активност на метаболити от екстракт *Ononis spinosa* L. (гръмотрън).
- За първи път е изследван ефекта на екстракт от *Alchemilla monticola* Opiz (цариче) и неговите метаболити AST и QUE върху PI3K сигнализирането и транскрипционните фактори C/EBPα и PPARγ, регулиращи гени като адипонектин *ADIPOQ,* транскрипционен фактор *SREBP* и *SREBP*-зависими липогенни гени.
- Механизъмът на анти-адипогенното действие на ононин (ONON), открит в екстракт от *Ononis spinosa* L. (гръмотрън) включва повишаване на SIRT1 и инхибиране на PPARγ.
- Доказан е потенциалът на маакияин (MACK) върху сигнални пътища, свързани с калорийната рестрикция, *aak-2/sir2.1*, и разхода на енергия и липиден метаболизъм, *nhr-49/mdt-15*, и механизъм, въвличащ MACK в регулация на липидния обмен при нематоди чрез микроРНКи.

8. Публикации

Дисертацията завършва с 3 публикации. Всички публикации са в Q1, като при всички тях, импакт факторът е над 4. В този аспект, критериите на Института по микробиология за публикационно активност са изпълнени отлично от докторанта и надвишават количествените критерии за придобиване на образователна и научна степен „ДОКТОР".

9. Въпроси

1. Възможна ли е хипотезата, че изследваните метаболити от *Ononis spinosa* ONON и MACK могат да се използват в комбинирана терапия при пациенти с метаболитни проблеми, не само при такива със затлъстяване?

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Дисертационният труд на Савета Георгиева Младенова е изработен ***на високо научно ниво*** и ***съдържа научни, научно-приложни резултати, които представляват оригинален принос в науката*** и **отговарят на** изискванията на Закона за развитие на академичния състав в Република България (ЗРАСРБ), Правилника за прилагане на ЗРАСРБ и Правилника за прилагане на ЗРАСРБ на БАН. Представените дисертационни резултати съответстват на специфичните изисквания на Правилник на ИМикБ за приложение на ЗРАСРБ.

Дисертационният труд показва, че докторантката **притежава** теоретични знания и професионални умения като **демонстрира** качества и умения за самостоятелно провеждане на научно изследване.

Поради гореизложеното, давам своята ***положителна оценка*** за проведеното изследване в дисертацията, и ***предлагам присъждане на образователната и научна степен 'Доктор' в направление*** 5.11. Биотехнологии (Технология на биологично-активните вещества) ***на Савета Георгиева Младенова.***

31.08.2026 г.

Рецензент: .....

(Доц. Петя Димитрова)