

СТАНОВИЩЕ

от проф. д-р Велизар Костадинов Гочев,
Биологически факултет, Пловдивски университет „Паисий Хилендарски“

на дисертационен труд за присъждане на образователната и научната степен „доктор“
Област на висше образование: 5. Технически науки; професионално направление: 5.11.
Биотехнологии; докторска програма: „Технология на биологично активните вещества“

Автор: инж. Савета Георгиева Младенова

Тема: *„Изследване на анти-обезогенен потенциал на екстракти от *Alchemilla monticola* Oriz и *Ononis spinosa* L. за контрол на затлъстяване в ин витро и ин vivo модели“*

Научен ръководител: проф. д-р Милен И. Георгиев, Институт по микробиология „Стефан Ангелов“ – БАН

1. Общо описание на представените материали

Със заповед № I-98/30.06.2026 г. на директора на Института по микробиология „Стефан Ангелов“ (ИМикБ) съм определен за член на научното жури по процедурата за защита на дисертационния труд на инж. Савета Георгиева Младенова. Представеният от докторантката комплект материали на електронен и хартиен носител е в съответствие с нормативните изисквания, включва следните документи: заявление за разкриване на процедура за защита на дисертационен труд; автобиография в европейски формат; протоколи, свързани с докладване на готовността за откриване на процедура и с предварително обсъждане на дисертационен труд; дисертационен труд; автореферат; списък на научните публикации по темата на дисертацията; копия на научните публикации; декларация за оригиналност и достоверност на приложените документи. Приложените документи ми дават пълно основание да определя процедурата, като отговаряща на всички национални и институционални нормативни изисквания.

2. Кратки биографични данни за докторанта

Автор на разработката е инж. Савета Георгиева Младенова, която е завършила висшето си образование в Химико-технологичен и металургичен университет, където придобива ОКС „магистър“ с професионална квалификация „инженер-биотехнолог“. Тя разработва дисертационния си труд в ИМикБ под научното ръководство на проф. д-р Милен И. Георгиев. Професионалното ѝ развитие преминава през „Бул-Био НЦЗПБ“ ЕООД, „Комак

Медикал“ ЕООД и „Си 7 Комерсиал“ ЕООД. Образованието и професионалната компетенция на докторантката са изцяло в сферата на докторската програма.

3. Актуалност на тематиката и целесъобразност на поставените цели и задачи

Темата е безспорно актуална. Затлъстяването е комплексно метаболитно заболяване с нарастваща честота и с пряка връзка с диабет тип 2, сърдечно-съдови, възпалителни и други хронични заболявания. Паралелно с развитието на съвременната фармакотерапия остава научната необходимост от идентифициране на нови молекули и механизми, които биха могли да модулират адипогенезата, липогенезата и енергийния метаболизъм. Изборът на *Alchemilla monticola* и *Ononis spinosa* съчетава етнофармакологична обосновка с възможност за откриване и механистично характеризирание на конкретни вторични метаболити.

Целта е ясно формулирана: да се изследва влиянието на двата растителни екстракта и техни вторични метаболити върху адипогенезата и липидното натрупване в човешки адипоцити и да се валидират най-значимите резултати в модел на *C. elegans*. Шестте задачи са логично подредени – литературна и фитохимична характеристика, *in silico* прогнозиране, функционален клетъчен скрининг, изясняване на молекулярни механизми и *in vivo* валидиране. Те са адекватни на поставената цел и взаимно се допълват.

4. Познаване на проблема

Литературният обзор показва добра осведоменост за биологията на мастната тъкан, регулацията на адипогенезата, ролята на PI3K/AKT, PPAR γ /C/EBP, AMPK/SIRT1 и SREBP-1 сигнализирането, както и за възможностите и ограниченията на различни клетъчни и организмови модели на затлъстяване. Положително оценявам свързването на традиционната употреба и фитохимията на изследваните растения с конкретни молекулярни мишени. Обзорът не е само описателен, а изгражда аргументацията за избора на екстрактите, съединенията и експерименталните модели. Използваната литература включва както фундаментални публикации, така и значителен брой съвременни източници.

5. Методика на изследването

Експерименталната постановка и методическият обхват определено са силна страна на дисертацията. Фитохимичното изследване включва ^1H и 2D ЯМР-базирано метаболитно профилиране, последвано от молекулен докинг към C/EBP α , PPAR γ , AKT, PI3K и AMPK. Биологичната активност е изследвана в човешки SGBS преадипоцити/адипоцити, което има важно предимство пред широко използваните миши 3T3-L1 клетки при екстраполация към човешката адипоцитна биология. Използвани са MTT тест за жизнеспособност, Oil Red O за

количествено определяне на липидното натрупване, анализ на свободен глицерол, RT-qPCR и имуноблот за ключови адипогенни и липогенни регулатори.

Организмовото валидиране при *C. elegans* включва глюкозо-индуцирано липидно натрупване, Nile Red оцветяване и конфокална микроскопия, анализи на жизнеспособност, двигателна активност и хемотаксис, както и експресионен анализ на *aak-2*, *sir-2.1*, *mdt-15*, *nhr-49*, *sebp-2*, *sbp-1* и избрани микроРНК. Включването на орлистат като референтно средство позволява функционално сравнение. Използването на три независими биологични експеримента и статистическа обработка чрез t-тест/ANOVA с Bonferroni post hoc анализ е напълно адекватно за поставените задачи. Като цяло методическият набор е съвременен, многопластов и позволява фенотипните наблюдения да бъдат свързани с молекулярни промени.

6. Характеристика и оценка на дисертационния труд

Експерименталната част е последователна и съдържа няколко ясно разграничими линии. При *A. monticola* ЯМР профилирането идентифицира флавоноиди и флавоноидни гликозиди, сред които астрагалин и кверцитрин. Екстрактът намалява липидното натрупване в SGBS адипоцити и повишава базалната липолиза, като ефектът е съпроводен с понижаване на PI3K и АКТ и на ключовите адипогенни маркери PPAR γ , C/EBP α и адипонектин. Особено интересен е двупосочният концентрационен ефект на астрагалина върху PI3K/АКТ – резултат, който обосновава необходимост от по-детайлно фармакодинамично изследване.

При *O. spinosa* се наблюдава по-сложна картина. Целият екстракт умерено увеличава липидното натрупване и потиска базалната липолиза, докато изолираните вторични метаболити ононин и особено маакияин понижават натрупването на липиди. Маакияинът показва най-убедителен концентрационно зависим ефект, съпроводен с промени в SREBP1/ACC и PPAR γ /C/EBP α , което логично мотивира избора му за организмово валидиране. При *C. elegans* маакияинът намалява глюкозо-индуцираните липидни натрупвания, повишава двигателната активност и модулира гени, свързани с енергийния метаболизъм и калорийното ограничение – *aak-2*, *sir-2.1*, *mdt-15* и *nhr-49*. Същевременно липсата на промяна във фосфорилирането на ААК-2 в изследваната времева точка е коректно отчетена и показва, че част от предложените връзки следва да се разглеждат като добре обосновани хипотези, а не като окончателно доказана причинност.

7. Приноси и значимост на разработката за науката и практиката

Приемам основната част от формулираните научни приноси. С най-висока стойност според мен са:

- ✓ комплексното доказване на анти-адипогенния потенциал на *A. monticola* в човешки адипоцити и свързването му с модулация на PI3K/АКТ и PPAR γ /C/EBP α ;

- ✓ първото системно характеризиране на анти-адипогенната активност на ононин и маакияин в човешки адипоцити;
- ✓ установяването на концентрационно зависим липид-редуциращ ефект на маакияин и валидирането му на организмово ниво при *C. elegans*;
- ✓ очертаването на връзка между действието на маакияин и регулатори на енергийния метаболизъм aak-2/sir-2.1 и nhr-49/mdt-15.

Научно-приложната значимост е преди всичко в идентифицирането на маакияин като перспективна природна молекула за последващи фармакологични и биотехнологични разработки. На този етап данните не обосновават пряко терапевтично приложение, но създават надеждна основа за изследване на фармакокинетика, таргетна ангажираност, безопасност и ефективност в по-висши животински модели.

8. Преценка на публикациите по дисертационния труд

Резултатите от дисертационния труд са представени в три научни публикации на английски език в международни реферирани списания от кuartил Q1: International Journal of Molecular Sciences (2023, IF 4.9), Biomedicine and Pharmacotherapy (2022, IF 7.5) и Frontiers in Pharmacology (2021, IF 5.988). Общият посочен импакт фактор е 18.388. Инж. Савета Младенова е първи автор и в трите статии, което е съществен показател за личен принос при планиране, изпълнение, анализ и представяне на изследванията. Тематично трите публикации покриват основните експериментални направления на дисертацията. Публикационната активност е напълно релевантна на обема и качеството на дисертационния труд.

9. Лично участие на докторантката

От представените материали, интегрираното изложение на експерименталните резултати и първото авторство във всички публикации по дисертацията може обосновано да се приеме, че личното участие на докторантката е съществено. Трудът показва умение да се свързват аналитична химия, клетъчна биология, молекулярни методи и работа с моделен организъм в обща експериментална стратегия, както и способност за критична интерпретация на несъвпадащи резултати на ниво генна експресия, протеин и фенотип.

10. Автореферат

Авторефератът отговаря на изискванията и отразява всички по-съществени резултати от дисертационния труд.

11. Критични забележки и препоръки

Забележките ми имат предимно препоръчителен характер и не променят положителната оценка на труда. На места интерпретацията на резултатите преминава от вероятност към категорично твърдение за директно молекулярно взаимодействие, което изисква допълнителни изследвания. Докингът и промените в количеството на PI3K, PPAR γ или други

протеини са силно насочващи, но сами по себе си не доказват директно свързване или ензимна инхибиция.

Термините „анти-обезогенен ефект“ и „безопасност“ при *C. elegans* е добре да се използват с известна предпазливост: моделът убедително демонстрира липид-редуциращ ефект и липса на намалена жизнеспособност в изследвания диапазон, но не възпроизвежда цялата патофизиология на човешкото затлъстяване и не представлява пълна токсикологична оценка.

Въпрос към докторантката: Как бихте обяснили факта, че екстрактът от *O. spinosa* увеличава липидното натрупване в SGBS адипоцити, докато два негови идентифицирани компонента – ононин и маакияин – го понижават, и какъв експериментален дизайн бихте използвали, за да установите кои компоненти на екстракта определят крайния фенотип и дали между тях има синергични или антагонистични взаимодействия?

12. Лични впечатления

Нямам лични впечатления за докторантката извън оценката на представените научни материали. Самият дисертационен труд обаче създава впечатление за последователна експериментална работа, добра методологична подготовка и стремеж резултатите да бъдат интерпретирани в контекста на съвременната молекулярна биотехнология.

Заклучение

Дисертационният труд на инж. Савета Георгиева Младенова представлява завършено, актуално и методологично добре обезпечено научно изследване. Получени са оригинални научни резултати с фундаментално и перспективно научно-приложно значение, а публикациите по темата удостоверяват тяхната научна видимост. Работата показва задълбочени теоретични знания, владение на съвременни биотехнологични, клетъчни и молекулярни методи и способност за самостоятелно планиране, провеждане и интерпретиране на научно изследване.

Считам, че дисертационният труд отговаря на изискванията за придобиване на образователната и научната степен „доктор“. Давам положителна оценка и предлагам на уважаемото научно жури да присъди на инж. Савета Георгиева Младенова образователната и научната степен „доктор“ по професионално направление 5.11. Биотехнологии, докторска програма „Технология на биологично активните вещества“.

Дата: 31.08. 2026 г.

Член на НЖ: