



РЕЦЕНЗИЯ

от проф. дхн **Ирини Дойчинова**,
Фармацевтичен ф-т, МУ – София

ОТНОСНО: дисертационния труд на **Мерилин Мазен Ал Шариф**, редовен докторант към секция „QSAR и молекулно моделиране“, Институт по биофизика и биомедицинско моделиране, БАН,

на тема: „Изследване на лиганд-зависимата дисрегулация на PPAR γ : описване на пътища, водещи до нежелан изход и молекулно моделиране”

за присъждане на образователна и научна степен „доктор” в област на висше образование 4. Природни науки, математика и информатика“, професионално направление 4.3. Биологически науки, научна специалност: Приложение на принципите и методите на кибернетиката в областта на зависимости структура – активност на биологично активни вещества.

Научни ръководители: доц. д-р Иванка Цаковска и чл.кор. проф. Илза Пъжева, дбн, Институт по биофизика и биомедицинско моделиране, БАН

Дисертационният труд на Мерилин Ал Шариф е в областта на изчислителната токсикология – интердисциплинарна наука, фокусирана върху разработването на *in silico* модели за оценка на токсичността на ксенобиотици. Темата е изключително актуална, особено след пълната забрана за тестване на токсичността на козметични продукти върху животни, наложена от Европейската комисия през 2013 г. Като алтернатива на токсикологичните експерименти се явяват *in silico* моделите, които се извеждат въз основа на информация от *in vitro* тестове и функционални анализи и позволяват да се правят предварителни оценки и прогнози за токсичността на нови съединения.

Обект на дисертационния труд е т.нар. пероксизомен пролифератор-активиран рецептор гама (PPAR γ). PPARs принадлежат на голямото семейство на ядрените хормонални рецептори и контролират експресията на гени, участващи в липидния метаболизъм, инсулиновата резистентност, възпалението и ангиогенезата. Активират се чрез малки молекули-лиганди, които променят конформацията на рецептора и отключват механизми на генна експресия. PPAR γ се среща главно в мастната тъкан и е тригерна молекула, отключваща активацията на гени, свързани с липидния транспорт и метаболизъм. В дисертацията наличната научна информация от активирането на PPAR γ до развитието на неалкохолна стеатозна болест на черния дроб (НАСБЧД) е интегрирана в т.нар. път, водещ до нежелан изход (AOP, adverse outcome pathway). На

практика, АОР описва патогенезата на заболяването и представлява изключително важен теоретичен принос.

В допълнение са събрани структурни и биологични данни за лиганди-агонисти на PPAR γ и са използвани за *in silico* анализ. Въз основа на този анализ са изведени два модела: фармакофорен и 3D-QSAR-базиран. Фармакофорният модел е включен в протокол за виртуален скрининг и позволява разпознаването на съединения с потенциален простеатогенен ефект. 3D-QSAR моделът позволява прогнозиране на трансактивационната активност на съединения-агонисти на PPAR γ . Двата модела са комбинирани в двустъпков алгоритъм за разпознаване и оценка на съединения с потенциална хронична хепатотоксичност.

Дисертационният труд е написан на 208 страници и съдържа въведение, литературен обзор, цел и задачи, изходни данни и методи, резултати и обсъждане, приноси, литература и трудове, свързани с дисертацията. Онагледен е с 12 таблици и 48 фигури. Библиографията включва 291 заглавия и 15 интернет адреса. Към дисертацията има и 2 приложения, включващи общо 8 таблици.

Литературният обзор е фокусиран върху изчислителната токсикология като основен подход, използван в дисертацията, и върху PPAR γ и неалкохолната стеатозна болест на черния дроб като обекти на проведения анализ. Литературата включва предимно заглавия от последните 10 години. Обзорът е написан разбираемо, без да се излиза от научната терминология и показва добро познаване както на изучаваните обекти, така и на използваната методика. В края на обзора има добре формулирани изводи, но липсва работна хипотеза, която да се докаже или отхвърли чрез резултатите от анализите, описани в дисертацията.

Целите на дисертацията са две. Едната цел е въз основа на данни от литературата да се дефинира биохимичния път, водещ до развитието на НАСБЧД. Втората цел е чрез методите на изчислителната токсикология да се разработят модели за разпознаване на лиганди, способни да активират тригера PPAR γ . Аналогично на целите, **задачите** са обединени в две групи и формулират ясно етапите в работата по постигането на целите.

В главата „**Методи и данни**” е описан широк набор от методи като се започне от рутинното и изключително трудоемко събиране на данни от литературата „на ръка“, тяхното систематизиране, анализ и интегриране в път, водещ до нежелан изход, през методите за подготовка на протеините за *in silico* обработка и анализ на междумолекулните взаимодействия до специфичните методи на изчислителната токсикология за идентифициране на фармакофор, молекулен докинг и 3D-QSAR. Този широк набор от методи, използвани в дисертацията, показва, че докторантът е получил много добра методологична подготовка, което е една от целите на докторското обучение.

Резултатите са отразени в три подглави. В първата подглава въз основа на анализ на над 300 литературни източника са предложени два пътя, инициирани от лиганд-зависимата дисрегулация на PPAR γ . Единият започва с инхибиране на PPAR γ с лиганди-антагонисти в адипоцитите, а другият – с активиране на PPAR γ с лиганди-агонисти в хепатоцитите. И двата пътя водят до повишено ниво на триглицериди и формиране на растящи липидни капки в хепатоцитите. Достоверността на

предложените пътища е оценена по методика, предложена от Организацията за икономическо сътрудничество и развитие. Не става ясно откъде идва оценката „Много силна“, след като в таблицата от Приложение Б повечето взаимовръзки получават оценка „Средна“.

Втората подглава описва създаването на база данни от 439 лиганда на PPAR γ и биологичните им активности, измерени чрез афинитет на свързване IC₅₀, трансактивационна активност EC₅₀, относителна ефикасност и % max. Базата данни е свободно достъпна в Интернет, което е особено полезно за научната общност. Според мен, по-подходящото място на тази подглава е в раздела „Методи и данни“.

Третата подглава, озаглавена „Молекулно моделиране“ включва всички резултати от задачите по втората цел, а именно чрез методите на изчислителната токсикология да се разработят модели за разпознаване на лиганди, способни да активират тригера PPAR γ . Използвайки 104 кристалографски структури на комплекси агонист – PPAR γ е изведен 4-елементен модел на фармакофор, който е използван за виртуален скрининг на 2784 съединения, сред които агонисти, частични агонисти и съединения, които не са лиганди на рецептора. Моделът е разпознал 85% от агонистите, 44% от частичните агонисти и 77% от нелигандите.

Вторият модел, който е разработен, е 3D-QSAR модел за предсказване на трансактивационна активност на агонисти на PPAR γ . Използвайки сравнителен анализ на индексите за молекулно подобие (CoMSIA) са изведени множество модели и са оценени чрез кръстосано валидиране. Най-добрият включва полетата на електростатичните, водород-акцепторните и хидрофобните индекси на подобие. Моделът има $r^2_{pred} = 0.552$ върху външна тестова група от 39 съединения.

Направен е сравнителен анализ между двата модела – фармакофорния и CoMSIA – и е получено отлично съвпадение в структурните изисквания за трансактивационна активност. Двата модела са интегрирани в общ двустъпков протокол за виртуален скрининг и количествена оценка на лиганди-агонисти на PPAR γ .

Приносите на дисертацията бих формулирала в две направления:

- Научно-теоретичен принос, състоящ се в описване на два тъканно-специфични пътя, свързващи лиганд-зависимата дисрегулация на PPAR γ с НАСБЧД. Този принос е изключително важен, дава фундаментално знание.
- Научно-приложен принос, състоящ се в разработването на два модела – фармакофорен и 3D-QSAR – за разпознаване на лиганди-агонисти на PPAR γ и количествена оценка на тяхната активност. Моделите са комбинирани в двустъпков алгоритъм.

Трудовете, свързани с дисертационния труд включват 3 публикации в списания с IF, 1 доклад и 4 резюмета, публикувани в научни списания с общ брой цитати 6. Мерилин има множество участия в национални и международни научни форуми и в 2 европейски проекта.

Препоръки:

1. Препоръчвам разработването на online достъп до двустъпковия алгоритъм за разпознаване и оценка на съединения-агонисти на PPAR γ .
2. Препоръчвам дисертацията на Мерилин да се включи в страницата на групата, защото е много добре написана и би била полезна за колегите, работещи в това направление.

Въпрос:

В литературния обзор споменавате международната програма за разработване на пътища, водещи до нежелани реакции и нейната база данни. Подавали ли сте заявка за включване на пътищата, водещи до стеатозна болест, описани в дисертационния труд, в базата данни на програмата?

Заклучение:

Темата на дисертационния труд, разработен от Мерилин Ал Шариф, е актуална и перспективна. Дисертационният труд е задълбочен и аналитичен и показва добрата теоретична и методологична подготовка на докторанта. Използваните методи са съобразени с целта и задачите на изследванията. Постигнати са значими резултати, които представляват приноси с теоретичен и научно-приложен характер. Наукометричните показатели многократно надвишават изискването за количествените критерии за придобиване на образователната и научна степен „Доктор“, залегнало в Правилника за условията и реда за придобиване на научни степени и заемане на академични длъжности в Института по биофизика и биомедицинско инженерство при БАН. На това основание давам **положителна оценка** и препоръчвам убедено на уважаемите членове на научното жури да присъдят на Мерилин Ал Шариф образователната и научна степен „Доктор“.

20.04.2016 г.
София

Рецензент:
(проф. Ирини Дойчинова)