

Институт по биология и
имунология на
размножаването - БАН

Вх. № 145-Н/28-02-22

РЕЦЕНЗИЯ

от Доц. Тая Милачич, дб

Институт по биология и имунология на размножаването
„Акад. Кирил Братанов“ при БАН

на дисертационен труд за присъждане на образователната и научна степен 'доктор'

професионално направление 4.3 Биологически науки

докторска програма по специалност 01.06.17 „Физиология на животните и човека”,

Автор: Пламена Ангелова Ставрева

Форма на докторантурата: задочна

Звено: Репродуктивни биотехнологии и криобиология на гаметите

Тема: ВЛИЯНИЕ НА НОВОСИНТЕЗИРАНИ ВЕЩЕСТВА ОТ ГРУПАТА НА МЕТИЛКСАНТИНИТЕ ВЪРХУ ФУНКЦИОНАЛНИ ПОКАЗАТЕЛИ НА МЪЖКИ ГАМЕТИ ПРЕДИ И СЛЕД КРИОКОНСЕРВАЦИЯ

Научен ръководител: Проф. Пламен Тодоров, дбн, ИБИР-БАН

1. Общо представяне на процедурата и докторанта

Представеният комплект материали на електронен носител е в съответствие с изискванията на ИБИР-БАН за придобиване на ОНС „доктор“ и Правилника за развитие на академичния състав на ИБИР-БАН, като включва и изискуемите съгласно ЗРАСРБ и ППЗРАСРБ документи: Доклад до Директора на ИБИР, БАН, София за разкриване на процедурата за защита на дисертационен труд, автобиография на докторанта, копие от диплома за висше образование, заповед за зачисляване в докторантура, протокол за издържан докторантски минимум, решение на НС за състав на научното жури, протокол от научното жури по процедурата на защита, дисертационен труд, автореферат, списък на научните публикации по темата на дисертацията, копия на научните публикации, списък на участията в научни форуми, списък на цитирания.

По темата докторантът е направил 2 публикации и 2 представяния на научни форуми.

2. Кратки биографични данни за докторанта

Пламена Ставрева е зачислена като докторант в задочна форма на обучение от септември 2017 г. към ИБИР-БАН и е отчислена е с право на защита през септември 2021г. Има 2 научни публикации, свързани с настоящия дисертационен труд, едната от които е в списание с импакт фактор. През 2016 г. завършва магистратура по специалност специалност Молекулярна биология и биотехнология в Пловдивския университет „Пайсий Хилендарски“, Биологически факултет. Там придобива професионални умения в областта на рекомбинантни ДНК технологии, молекулярна фитопатология, молекулярна медицинска диагностика, имунологични методи, основи на епигенетиката, растителна молекулярна вирусология, стрес и програмирана клетъчна смърт. Придобива квалификация бакалавър по специалността молекулярна биология и биотехнология. Други основни предмети, които е изучавала са микробен метаболизъм, индустриална биокатализа, вирусология, химия на биологично активните вещества, биотрансформации, биофармакология и токсикология, микробен синтез в молекулярната биотехнология. В допълнение на висшето си образование завършва магистратура Икономическия университет във Варна по специалността Икономика на индустрията като придобива умения като корпоративна социална отговорност, оценка на рискови проекти, конкурентоспособност на предприятието, набор и подбор на персонала, специалност по корпоративен бизнес и управление.

От ноември 2012 година до момента работи на длъжността ембриолог в СБАЛАГ „СЕЛЕНА“, град Пловдив. Посетила е 6 международни конгреса и 5 допълнителни постквалификационни курса в Европа, между които по витрификация и размразяване на човешки яйцеклетки и ембриони, оценка на овоцитното качество, инжектиране на единичен сперматозоид в яйцеклетка (ICSI) и курс в областта на предимплантация и неинвазивния пренатален генетичен скрининг. Владее добре английски и руски език.

3. Актуалност на дисертационния труд

Основно в дисертационния труд е засегнат стерилитетът като един важен медико-биологичен и социален проблем, засягащ все повече двойки в репродуктивна възраст. В голяма част от случаите причината е нарушената продукция на мъжки гамети, като са разгледани и различни заболявания и екзогенни фактори, които могат да оказват негативно влияние върху качеството на семенната течност, изразено най-често в намалена концентрация и подвижност на сперматозоидите.

Използването на асистирани репродуктивни техники за лечение на стерилитета дава възможност за употребата на вещества, стимулиращи мотилитета на мъжките гамети в процеса на тяхната обработка. Най-често това се налага при инжектирането на яйцеклетките със сперматозоиди с намалена подвижност, замразени сперматозоиди или такива, които са получени след тестикуларна екстракция.

Установени в клиничната практика са някои вещества като например пентоксифилин и

теофилин, които имат стимулиращо действие върху подвижността на човешките сперматозоиди като в крайна сметка повишават нивата на цикличния аденозинмонофосфат. Но от друга страна тяхното действие е противоречиво, т.к. могат предварително да предизвикат акрозомна реакция и също така да имат негативно влияние върху развитието на получените ембриони. Това предполага търсенето и проучване възможността за използване и на други вещества, метилксантини и други, които да подобрят подвижността на мъжките гамети.

4. Познаване на проблема, целта и задачите

Докторантът е развил много подробно литературния си обзор, като структура и съдържание.

Информацията е поднесена достъпно и разбираемо, което позволява и навлизането в тематиката бързо и лесно. Литературният обзор се състои от две части и обхваща състав и свойства на семенната течност, спермалната плазма, клетъчния състав, техники на криоконсервация на семенна течност, разгледани са различни стимулиращи вещества върху мотилитета на сперматозоидите. Подробно са описани кинетиката на сперматозоидите, физичните и химични въздействия върху тях, използване на вещества от групата на метилксантините като стимулатори на мотилитета на гаметите, като специално внимание е обърнато върху пътищата и механизмите на тяхното действие.

Дисертацията съдържа необходимите структурни единици – увод, литературен обзор, цел и задачи, материали и методи, резултати и обсъждане, заключение, списък с използваната литература, публикации по темата на дисертационния труд и представяне на резултатите на научни форуми. Трудът е в обем от 86 страници със съответно 23 фигури, 5 таблици, 110 литературни източника. По темата дисертантът е направил 2 публикации, едната от които в списание с импакт фактор, както и 2 представяния на научни форуми.

Литературният обзор е добре систематизиран и обобщен, като е онагледен с 5 фигури и 1 таблица. Голяма част от цитираните изследвания и анализи са нови, което прави дисертационния труд актуален.

Целта е формулирана ясно и коректно, като към нея са поставени 6 задачи, които последователно описват реда на проведените анализи.

5. Използвана методология

Формулирана е ясно целта и към нея са поставени и съответните шест акуратно формулирани задачи.

Избраната методика на при изследванията позволява постигане на поставената цел и получаване на адекватен резултат на шестте задачи, поставени в дисертационния труд.

В материали и методи са използвани различни похвати чрез прилагането на високоспециализирана апаратура, като основно е изследвано влиянието на няколко новосинтезирани

метилксантина за стимулиране на мотилитета на мъжките гаметите. Приложени са техники като компютърно асистиран спермален анализ, изследване на ДНК-фрагментация на сперматозоидите, различни техники на обработка - центрофугиране чрез плътностен градиент и класически swim-up метод на обработка на мъжките гаметите, способността им за прикрепване към хиалуронан, замразяване, както и оплождане чрез метода интрацитоплазмено инжектиране на единичен сперматозоид (ICSI). Направена е и оценка и култивиране на получените предимплантационни ембриони. Проведен е адекватен и подробен статистически анализ на резултатите, а съвременната апаратура, с помощта на която са проведени изследванията, допринася за достоверността на получените резултати.

6. Оценка на резултатите и изводите от дисертационния труд

В главата „Резултати и обсъждане”, която е най-подробна, се разглеждат последователно получените резултати от експериментите, като аналогично следват поставените задачи на дисертационния труд. Авторът разглежда редица новосинтезираните метилксантини, но изключвайки част от тях, се насочва към по-подробното проучване на два, а именно T-1 и N-61, като допълва и сравнява действието им с това на доказани в практиката пентоксифилин.

От резултатите се достига до заключението, че за първи път е проучено подробно действието на два новосинтезирани метилксантина: T-1 и N-61 и в заключение може да се обобщи, че тези новосинтезирани вещества подобряват мотилитета и преживяемостта на гаметите, в нативна семенна течност, както при нормозооспермия, така и при астенозооспермия, като стимулиращият им ефект е съпоставим с този на пентоксифилина. Тези две вещества също така не да оказват влияние върху други техни функционални показатели (напр. ДНК-фрагментация), а това именно ги прави подходящ обект за евентуално използване в програмите за асистирана репродукция. Тези новосинтезирани метилксантини стимулират и подвижността на предварително сепарирани нормокинетични гаметите, както и способността им да се прикрепят към хиалуронан като се установява, че не оказват негативно влияние върху оплодителната им способност и качеството на получените предимплантационни ембриони.

Получените пет извода са конкретно формулирани и отговарят напълно на поставените задачи, като отразяват последователно анализа от получените резултати.

7. Автореферат

Изготвен е и автореферат (27 стр.) от дисертанта, съгласно изискванията на ИБИР, и отразява всички основни резултати и изводи от дисертационния труд.

8. Бележки и въпроси

Забележките са минимални и незначителни, те имат предимно уточняващ характер, като например при две от фигурите в литературния обзор липсва източник, а на една липсва оразмеряване в микрометри (в долен ляв ъгъл), за да се придобие представа за големината на клетките. На едно

място е използвано търговското наименование на продукта Percoll, без да е уточнено че това е плътностен градиент. Тези забележки имат градивен характер и по никакъв начин не омаломажават високата стойност на дисертационния труд.

Въпрос 1: С какво бихте си обяснили факта, че при криоконсервирани сперматозоиди и при използване на веществото N-61 след 6-часова инкубация се наблюдава статистически достоверна разлика в мотилитета на гаметите в опитната и контролната група, а при ПТХ и Т-1 – след 9 часа?

Въпрос 2: На какво се дължи загубата 12-часова инкубация на подвижността на мъжките криоконсервирани гамети и се наблюдават единични подвижни сперматозоиди в контролната група?

9. Заключение

С оглед на зададените цели и получените резултати и изводи, намирам дисертационния труд на Пламена Ангелова Ставрева за напълно задоволителен и актуален, както по отношение на преодоляване на проблемите свързани с безплодието, така и по отношение на научния характер на настоящата работа.

Представеният дисертационен труд отговаря на изискванията на Закона за развитие на академичния състав в Република България (ЗРАСРБ), Правилника за прилагане на ЗРАСРБ и съответния Правилник на ИБИР-БАН, както и на препоръчителните критерии за придобиване на научни степени и заемане на академични длъжности в ИБИР-БАН и давам своята ПОЛОЖИТЕЛНА ОЦЕНКА. От гореизложеното, предлагам на почитаемото Научно жури също да гласува положително и да присъди на Пламена Ангелова Ставрева с научен ръководител проф. Пламен Тодоров, дбн, образователната и научна степен „доктор“ по научна специалност „Физиология на животните и човека“ по шифър 01.06.17.

29.03.2022г.

Гр. София

Изготвил:

доц. Т. Милачич, дб