

СТАНОВИЩЕ

от проф. Пламен Тодоров, дбн, от ИБИР-БАН

Относно: дисертационен труд за придобиване на образователната и научна степен доктор по специалност „Физиология на животните и човека“, шифър 01.06.17., представен от Пламена Ангелова Ставрева

на тема „Влияние на новосинтезирани вещества от групата на метилксантините върху функционални показатели на мъжки гамети преди и след криоконсервация“

Представеният дисертационен труд и съпътстващата документация съответстват на изискванията на ЗРАСРБ и Правилника за неговото приложение, както и на допълнителните критерии на БАН и ИБИР за защита на дисертация за придобиване на образователна и научна степен „доктор“.

Информация за кандидата: Пламена Ставрева получава образователната степен „магистър“ в Биологическия факултет към ПУ „Паисий Хилендарски“. От септември 2017г. е зачислена като задочен докторант към ИБИР-БАН, отчислена е с право на защита през 2021г. Има 2 научни публикации, свързани с настоящия дисертационен труд (едната в списание с импакт фактор). Участвала е в работата на 2 научни форума.

Актуалност на темата: Стерилитетът е значим медико-социален проблем, засягащ около 10-12% от двойките в репродуктивна възраст, като в голяма част от случаите причината е при мъжа. Различни заболявания и екзогенни фактори влияят върху сперматогенезата и водят до влошаване на качеството на семенната течност, изразяващо се най-често в намалена концентрация и подвижност на сперматозоидите. Използването на асистиращи репродуктивни техники за лечение дават възможност за употребата на вещества, стимулиращи мотилитета на мъжките гамети в процеса на тяхната обработка. Към момента в практиката приложение намират две такива вещества – пентоксифилин и теофилин. Има данни, че въпреки че стимулират подвижността, те имат и някои нежелателни странични ефекти върху сперматозоидите – преждевременна акрозомна реакция, негативно влияние върху развитието на получените ембриони. Това предполага търсенето и на други вещества, стимулатори на мотилитета, включително новосинтезирани метилксантини. В този аспект считам, че темата на дисертационния труд е актуална и важна както за медицината (лечение на инфертилитета), така и за биологията и химията в чисто фундаментален аспект.

Структура, цели и методичен подход на дисертационния труд, анализ на резултатите:

Дисертацията е написана на 81 страници и включва 23 фигури и 5 таблици. Структурирана е съгласно възприетите стандарти и се състои от Увод – 1 стр., Литературен обзор от 23 стр., Цел и задачи на дисертационния труд – 1 стр., Материали и методи – 17 стр., Резултати и обсъждане – 30 стр., Заключение – 2 стр., Изводи – 1 стр., Списък на използваната литература – 10 стр. и Приложения – 2 стр. Цитирани са 110 литературни източника. Представен е и списък на публикуваните от дисертанта статии и участия в научни форуми.

Литературният обзор е балансиран като структура и съдържание. Състои се от две основни части. В първата е представена информация за състава и свойствата на човешката семенна течност, устройството на сперматозоида, технологията за криоконсервация на мъжки гамети. Във втората докторантът дава информация относно възможностите за стимулиране на мотилитета на сперматозоидите и значението им за репродуктивната медицина. Специално внимание е обърнато на механизма на действие и използването на вещества от групата на метилксантините като стимулатори на подвижността. Голямото количество информация е добре систематизирано, обобщено и онагледено с 5 фигури и 1 таблица. Представянето на разглежданите данни е ясно, направено е професионално и включва всички основни постановки, които са необходими за обосноваване и разбиране на извършените изследвания. Добрият стил на изложение прави прочита на обзора, както и останалите части на дисертацията, лек и увлекателен. По-голямата част от цитираните работи са нови, от последните 5 години. *Мотивировката* на настоящето проучване логично произтича от направения литературен анализ.

Целта е формулирана точно и е прецизирана в **6 задачи**, които ясно очертават периметъра на проведените изследвания.

Като *изследователски материал* дисертантът използва човешка семенна течност (нативни и обработени еякулата и криоконсервирана сперма) и донорски ооцити. Изследваните вещества са синтезирани в катедрата по химия на фармацевтичния факултет към МУ-София (в дисертацията са представени структурните им формули). *Методичният подход* е адекватен на поставената цел и задачи и е изпълнен на високо ниво. Дисертантът е използвал широк спектър методи за оценка на гаметите – компютърен спермоанализ (CASA), морфологична оценка, тестове за виталност (оцветяване с еозин-нигрозин), за оценка степента на ДНК-фрагментация (SCD), прикрепване към хиалуронан (НВА) и др. За обработка на семенната течност с оглед изолиране на фракция нормокинетични сперматозоиди са използвани две техники - центрофугиране през плътностни градиенти и „swim-up“-метод. Оплождащата способност на гаметите е изследвана чрез класическо ин-витро оплождане и ICSI на донорски ооцити. Протоколите са описани старателно и подробно, което позволява тяхната възпроизводимост. Съвременната апаратура, с помощта на която са проведени изследванията, както и използването на висококачествени среди и консумативи от водещи световни производители гарантират достоверността на получените резултати.

Основна част по обем и по значимост в дисертацията е разделът *„Резултати и обсъждане“*. Получените експериментални данни са изложени и дискутирани в раздела в ред, който следва дефинираните задачи на дисертационния труд. На базата на различни фактори (неразтворимост, детриментален ефект, липса на стимулиращ ефект) в рамките на предварителните изследвания авторът елиминира голяма част от новосинтезираните метилксантини и определя като най-подходящи за по-нататъшно проучване две вещества – (Т-1 и N-61), като сравнява действието им с това на пентоксифилина. За контрола са използвани нетретирани гамети. Установено е, че и двете вещества стимулират мотилитета

и преживяемостта на сперматозоидите, без да влияят върху другите изследвани параметри – виталитет, ДНК-фрагментация, НВА-тест, оплождаща способност.

Получените данни са обработени статистически, представени в графики и таблици и онагледени с достатъчно количество оригинални снимки, потвърждаващи тяхната достоверност. Считаю, че представените резултати са лично дело на автора. Дискутирането им е на добър научен език и е убедително. Добро впечатление прави съпоставянето на собствените резултати с тези, получени от други автори (по литературни данни).

В **Заключението** в обобщен и систематизиран вид са представени основните резултати от дисертационния труд и тяхното значение. Правилно изведени и точно формулирани са 5 **извода**, които приемам изцяло. Те са конкретни, отговарят на поставените задачи и отразяват адекватно получените резултати.

Афторефератът (27 стр.) е изготвен съгласно изискванията и отразява всички основни резултати на дисертационния труд.

В качеството си на завеждащ секция и научен ръководител ще си позволя да споделя и **лични впечатления** от докторанта. От работата си като ембриолог и председател на Българската асоциация по репродуктивна човешка ембриология (на която тя е член), познавам Пламена Ставрева още преди зачисляването и в докторантура. Считаю, че притежава добра теоретична подготовка и практически опит в областта на асистираната репродукция. Владее съвременни методи за изследване, обработка и криоконсервация на гамети и ембриони, ин-витро оплождане и др. Доказателство за добрата и подготовка е фактът, че работи като ембриолог в един от водещите в страната ин-витро центрове. Отличава се с колегиалност и умение за работа в екип.

Заключение: Въз основа на гореизложеното, отчитайки научените и приложените от докторанта различни методи на изследване, правилно планираните и проведени експерименти, получените резултати, направените обобщения и изводи считаю, че представеният дисертационен труд отговаря на изискванията на ЗРАСРБ, както и на препоръчителните критерии за придобиване на научни степени и заемане на академични длъжности в ИБИР-БАН, което ми дава основание да го оценя **ПОЛОЖИТЕЛНО**. Позволявам си да предложа на почитаемото Научно жури също да гласува положително и да присъди на Пламена Ставрева образователната и научна степен „доктор“ по научна специалност „Физиология на животните и човека“.

22.03.2022г.

Изготвил Становището:



/проф. П.Тодоров, дбн/