

## СТАНОВИЩЕ

за дисертационния труд на задочния докторант Пламена Ангелова Ставрева на тема „Влияние на новосинтезирани вещества от групата на метилксантините върху функционални показатели на мъжки гамети преди и след криоконсервация”

от акад. Румен Панков, катедра „Клетъчна биология и биология на развитието”, Биологически факултет, Софийски университет „Св. Климент Охридски”

Член на научно жури, съгласно заповед № 32/22.02.2022г на Директора на Института по биология и имунология на размножаването „Акад. Кирил Братанов“ при БАН за получаване на образователната и научна степен „доктор”, професионално направление 4.3. Биологически науки, научна специалност, 01.06.17 „Физиология на животните и човека”.

Научен ръководител на докторанта е проф. Пламен Тодоров дбн.

Мъжкото безплодие, широко разпространено състояние, засягащо милиони двойки, е не само медицински, но и огромен социален проблем. От 70-те години на миналия век при лечението му се използват различни лекарства, включително гонадотропини, антиестрогени, тестостерон, антиоксиданти и микроелементи, но все още няма убедителни доказателства в подкрепа на медикаментозното му лечение и интензивното търсене на ефективни лекарства продължава да е актуален научен проблем. От дълго време метилксантините привличат голям изследователски интерес поради широкото им използване в технологиите за асистирана репродукция (ART). Действието им на клетъчно ниво се изразява в инхибиране на цикличната нуклеотидфосфодиестераза, което води до увеличаване на цАМФ и стимулиране на мотилитета. Допълнителните данни за стимулиране на акрозомната реакция от метилксантините, допринасят за повишаване на интереса към тези вещества и стимулират стремежа към създаване на новосинтезирани вещества от тази група. Представената ми за становище дисертация третира тази тема и поради това мога да я определя като актуална, както от фундаментална, така и от практическа гледна точка.

Дисертационният труд, съдържащ 81 страници, е организиран по утвърдената от ЗРАСРБ и Правилника за приложението му схема, като е запазен добър баланс между отделните раздели. Библиографията се състои от 110 подходящи литературни източника, голяма част от които са публикувани през последните пет години.

Литературният обзор е добре фокусиран и включва три раздела, посветени на биологията и криоконсервацията на семенната течност, характеристиките и начините за стимулиране на мотилитета на сперматозоидите, като логично, съществено внимание е обърнато на видовете метилксантини и механизмът на тяхното въздействие върху клетъчната сигнализация и сперматозоидите. Информацията в обзора е представена задълбочено и професионално, като е онагледена с пет подходящи фигури и една таблица.

Основната цел на труда – „да се изследва влиянието на новосинтезирани вещества от групата на метилксантините върху функционални показатели на мъжки гамети преди и след криоконсервация“ посочва ясно основната насока на изследването, която е прецизирана добре чрез формулираните шест конкретни задачи. Задачите напълно съответстват на поставения научен проблем и добре очертават периметъра на планираните изследвания.

Разделът „Материали и методи“ включва описание на широк набор от методи за пречистване и охарактеризиране на сперматозоиди, *in vitro* оплождане (IFV и ICSI), както и култивиране и оценка на получените предимплантационни ембиони. Ясното и подробно описание на използваните техниките демонстрира добрата експериментална подготовка на докторантката. Разделът е онагледен с шест фигури, а техниките могат да бъдат възпроизведени без използването на други източници. Адекватността на използваните методи е добра гаранция за постигане на поставените цели.

Получените резултати и тяхното обсъждане са направени в раздели, които следват формулираните задачи. Чрез добре премислени и добре изпълнени експерименти с предварително подбрани два (T-1, N-61) от тестваните девет новосинтезирани вещества от групата на метилксантините е показано, че тези агенти, използвани в концентрации от 3.6 mM, подобряват подвижността и преживяемостта на гаметите в нативната семенна течност. Ефектът се наблюдава както при нормозооспермия, така и при астенозооспермия и е съпоставим с контролния, използван в практиката пентоксифилин. Същите позитивни ефекти са установени при третиране на мъжките гамети след криоконсервация и след предварително отделяне на нормокинетични сперматозоиди. Чрез изследване на дисперсията на спермалния хроматин (SCD – тест) е демонстрирано, че третирането с T-1 и N-

61 не променя нивата на ДНК фрагментацията, която нормално настъпва при продължително *in vitro* инкубиране на гаметите и те са съпоставими с контролите. Особено окуражаващи са резултатите, които показват, че обработването на мъжките гамети с новосинтезираните метилксантини не оказва влияние върху оплодителната им способност и качеството на получените ембриони, като са отбелязани дори по-високи нива на фертилизация (както при IVF, така и при ICSI) и достигане до стадий бластоцист от определените нива за добра лабораторна практика.

Разделът е илюстриран с 12 добре изработени, комплексни фигури и 4 таблици. Резултатите са дискутирани убедително и ясно, като коректно са представени и съществуващите съвременни данни от други автори. Разделът затвърждава впечатлението за много добрата професионална подготовка на докторантката. От получените резултати са формулирани пет извода, с които съм напълно съгласен.

Авторефератът правилно отразява основните резултати на дисертационния труд, като изработването му, както и това на дисертацията са изпълнени много добре.

По-голямата част от резултатите от дисертационния труд са публикувани в две статии и са докладвани на 2 научни форума. Тези наукометрични данни напълно удовлетворяват и законовите изискванията за такъв научен труд.

**ЗАКЛЮЧЕНИЕ:** Дисертационният труд, представен от Пламена Ставрева представлява едно професионално изпълнено и компетентно представено научно изследване, което напълно отговаря на изискванията за придобиване на образователна и научна степен „доктор“. Той характеризира своята авторка като обещаващ млад изследовател, който притежава знания и умения самостоятелно да разработва и успешно да решава научни проблеми. Това ми дава основание да дам напълно убедено своята положителна оценка и да препоръчам на уважаемите членове на Научното жури, да присъди на Пламена Ангелова Ставрева образователната и научна степен "Доктор" по научната специалност „Физиология на животните и човека“.

07.04.2022 г.

  
/акад. Румен Панков/