

РЕЦЕНЗИЯ

от доц. Пламен Тодоров, дбн, зав. секция „Репродуктивни биотехнологии и криобиология на гаметите“ към Институт по биология и имунология на размножаването – БАН

Относно: Дисертация на тема „Молекулна основа на нарушени фертилни функции при мъжа, предизвикани от съвременни фактори на околната среда“, представена от Мая Начева Попова, за присъждане на научната и образователна степен „доктор“, в професионално направление 4.3. Биологически науки, специалност „Физиология на животните и човека“, шифър 01.06.17.

Информация по процедурата: Дисертационният труд е обсъден и насрочен за защита по предложение на секция „Имуноенвроендокринология“ към ИБИР-БАН. Процедурата е приета и журито е утвърдено на Научен съвет на ИБИР. Представени са всички необходими документи, свързани с докторантурата. Считаю, че са спазени всички изисквания на ЗРАСРБ и Правилника за неговото приложение.

Кратки биографични данни на кандидата: Мая Попова е родена през 1981г. в гр. Варна. Завършва френска езикова гимназия. През 2004г. получава образователната степен „бакалавър“ по специалност Биотехнологии, а през 2006г – „магистър“ по специалност Генно и клетъчно инженерство в СУ „Климент охридски“. От 2007г. работи като ембриолог в Медицински център „Репробаиомед“. През 2013г. е зачислена в докторантура задочна форма на обучение към ИБИР-БАН. Притежава международен сертификат за ембриолог, издаден от Европейската асоциация по човешка репродукция и ембриология (ESHRE). Омъжена, с две деца.

Актуалност на дисертационната тема: Безплодието (стерилитетът) е важен медико-социален проблем, засягащ 10-12% от двойките в репродуктивна възраст, като в голяма част от случаите причината е понижено качество на семенната течност. Известни са редица фактори (генетични, хормонални, имунологични, екзогенни), влияещи върху сперматогенезата и функциите на мъжките гамети. Съществува, обаче, една значителна група пациенти, при които инфертилитетът е идиопатичен и не се асоциира с точно определена причина. Дисертационният труд е посветен на изследване на молекулни механизми, свързани със сперматогенезата, организацията на генетичния материал, плазмената мембрана и цитоскелета на мъжките гамети именно при тази група пациенти. В този аспект считаю, че темата е актуална и подобен род проучвания са важни както за науката, така и за клиничната практика.

Анализ и оценка на дисертационния труд

Структура: Дисертационният труд е написан на 131 печатни страници и структуриран, както следва: Въведение – 2 стр., Литературен обзор – 41 стр., Цел и задачи – 1 стр., Материали и методи – 16 стр., Резултати и обсъждане – 43 стр., Заключение – 2 стр., Изводи – 1 стр., Приноси – 1 стр., Приложения – 3 стр. и Списък на използваната литература – 14 страници. Структурата на дисертацията съответства на общоприетите изисквания и е онагледена с 36 фигури и 23 таблици.

Въведение: Във въведението кандидатът разглежда актуалността на проблема, като обосновава необходимостта от провеждането на проучванията, залегнали в основата на дисертационния труд.

Литературен обзор: Обзорът е обширен, като изчерпателно обхваща всички аспекти на проблема и дава информация, която обслужва избраната научна тема и има приносен характер. Той включва подраздели, описващи структурата и функциите на мъжките гонади, регулацията на сперматогенезата, състава на семенната течност, причините и методите за диагностика на мъжкия стерилитет. Логично, с оглед тематиката на дисертационния труд, голяма част от обзора е посветен на образуването и устройството на мъжките гамети, както и процесите, протичащи в тях преди оплождане (зреене, капацитация, хиперактивация, акрозомна реакция). Достатъчно подробно са описани използваните в практиката методи за оценка на семенна течност (включително компютърен спермоанализ). Разгледана е ролята на ензима ароматаза и естрогените в мъжката репродукция. Кандидатът подробно описва организацията на гена, експресията и механизмите на действие на ароматазата. Разгледана е ролята на мелатонина в мъжката полова система (синтез и секреция, биологични функции, значение). Обзорът е онагледен с 11 подходящо подбрани фигури и 1 таблица, което го прави по-разбираем и лек за възприемане. Въз основа на набелязаните в обзора проблеми, авторът обосновава целта и задачите на настоящия дисертационен труд.

Цел и задачи: Целта на дисертационния труд е да бъдат изследвани молекулни характеристики на зрели човешки сперматозоиди, които отразяват въздействието на фактори от околната среда и могат да имат отношение към нарушена фертилна функция на мъжа. За изпълнение на поставената цел авторът разработва 6 задачи, които са достатъчно ясно и точно формулирани.

Материали и методи: Изследванията са проведени на базата на ИБИР-БАН, Биологическия факултет към СУ и МЦ „Репробиомед“. Изследователският материал е използван след получаване на информирано съгласие от страна на пациентите и в съответствие с действащото законодателство. Извършен е стриктен подбор на донорите на семенна течност в опитните и контролна група.

В експериментите са използвани широка гама методи за изследване: микроскопия (включително конфокална), компютърен спермоанализ, Real-time qPCR, имуноцитохимия, техники за обработка на семенна течност и др. Методиките са описани достъпно ясно и подробно, което позволява възпроизвеждане на експериментите. Използването на съвременна апаратура и среди и консумативи на водещи фирми-производители гарантира достоверността на получените резултати.

Резултати и обсъждане: Получените от автора резултати най-общо могат да се разделят в три групи:

Изследване влиянието на различни методи за пречистване на семенна течност

Изолирани са и са характеризирани чисти фракции сперматозоиди чрез различни техники на плътностно градиентно центрофугиране. Направена е сравнителна оценка на

морфологията и мотилитета на гаметите от нативен еякулат и в пречистени фракции. Изведени са корелационни зависимости между различни кинетични параметри. Макар получените резултати в този раздел да са по-скоро с потвърдителен характер, те са важни както в чисто научен аспект, така и за клиничната практика.

Изследвания, свързани с експресията и действието на ароматаза в мъжки гамети

Изследвана е експресията на гена за ароматаза CYP19 в зрели човешки сперматозоиди. За целта авторът е анализирал ароматазни транскрипти в бързи и бавноподвижни сперматозоиди, изолирани от мъже с астенозооспермия и контролни групи (с доказана фертилност). Резултатите показват, че експресията на CYP19 е по-висока в гаметите с влошен мотилитет. Интересно и важно е и наблюдението, че при пациенти с астенозооспермия се наблюдава повишена експресия на гена на ароматаза.

Изследване влиянието на мелатонин върху човешки сперматозоиди

Установено е, че мелатонинът влияе в ин-витро условия върху функционалните параметри на гаметите. Така например добавянето на хормона в 10nM концентрация подпомага процесите на капацитация и подобрява мотилитета и преживяемостта на сперматозоидите. С помощта на съвременни молекулярно-биологични техники авторът доказва експресия на два типа високоафинитетни мембранни рецептори за мелатонин върху гаметите (в пречистени фракции от човешки сперматозоиди). Експресията на MT1 се локализира предимно в основата на шийката и междинната област до терминалния сегмент, а на MT2 – както в зоната на главичката, така и по протежение на цялата опашка. Алфа-тубулин се визуализира с характерна локализация при капацитирани човешки сперматозоиди. След 24 часова инкубация в присъствието на мелатонин сигналът се наблюдава само в основата на шийката на мястото на проксималната центриола.

Доказателственият материал в дисертационния труд - снимки на микроскопски препарати, данни от компютърния спермоанализ, от PCR и др. е с много високо качество. Приятно впечатление прави отличната статистическа обработка и представянето на резултатите в таблици и графики. Кандидатът е показал умение не само да тълкува собствените резултати, но и да ги съпоставя с данните, получени от други автори, което свидетелства за отлично познаване на материала.

Изводи и приноси: От извършените изследвания са изведени 6 извода, които приемам, и са формулирани пет приноса, два от които с потвърдителен характер. Изводите коректно отразяват получените резултати.

Литература: Приложен е библиографски списък от 292 заглавия, всичките на латиница. 131 от източниците са от последните 10 години. Те са цитирани коректно там, където трябва, съобразно задачите на дисертационния труд.

Публикации във връзка с дисертационния труд: Кандидатът е представил 4 публикации, от които две са свързани непосредствено с дисертационния труд, а другите две имат косвено отношение към темата. В три от публикациите Мая Попова е водещ (първи) автор, което е

индикация за активното и участие в проведените изследвания. Резултатите са представени и на няколко научни форума под формата на постери и доклади.

Автореферат: Авторефератът (35 страници) е изготвен съгласно изискванията и отразява всички основни резултати и приноси на дисертационния труд.

Критични бележки:

На места литературният обзор е прекалено подробен, в някои подраздели информацията би могла да бъде представена в по-концентриран вид.

Целта на дисертационния труд не е формулирана достатъчно кратко и ясно. Прекалено подробно се описва какви изследвания се целят и планират, което според мен е излишно и се припокрива със поставените задачи.

В раздела „Материали и методи“ някои методики са описани с излишни подробности. Така напр. в техниката за компютърен спермоанализ се разглежда принципът на работа на работа на спермоанализатора, което го има и в литературния обзор, т.е. има повтарящи се пасажки.

Списък на публикациите и участията в научни форуми, в които са отразени получените резултати, има в автореферата, но не е представен в самата дисертация.

Следва да се отбележи, че направените от мен критични бележки са от техническо естество и в никакъв случай не омаловажават достойнствата на представения ми за рецензия дисертационен труд.

Лични впечатления от кандидата: Познавам кандидата от работата и като ембриолог в МЦ „Репробиомед“ и като член на Българската асоциация по репродуктивна човешка ембриология, на която съм Председател. Смя да твърдя, че Мая Попова е висококвалифициран млад учен, владеещ съвременни методи за изследване и работа с гамети и ембриони. Ползва се с уважение от колегите, с които работи. Считаю, че нейната докторантура е един прекрасен пример за колаборация между наука и клинична практика в областта на медицинската биология.

Заклучение: Представеният дисертационен труд на Мая Попова е актуален от научна и практическа гледна точка. Налице е добър баланс в структурата между отделните части на научния труд, с превалиране на обема на научните резултати и тяхното обсъждане. В тази връзка, достойнствата на дисертационния труд и изпълнените изисквания за необходимите количествени и качествени критерии съгласно ЗРАСРБ, ППЗРАСРБ и Правилника за развитие на академичния състав на ИБИР-БАН - София, ми дават основание да предложа на уважаемите членове на научното жури да присъдят на Мая Начева Попова научната и образователна степен „ДОКТОР“ по специалност 01.06.17. „Физиология на животните и човека“.

12.09.2019г.

Изготвил Рецензията:

/доц. П.Тодоров, дбн/