

## СТАНОВИЩЕ

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

**Относно:** дисертационен труд за придобиване на образователната и научна степен доктор по специалност „Развъждане на селскостопански животни, биология и биотехника на размножаването“, шифър 04.02.01., представен от Надя Емилова Петрова

**на тема** „Изолиране и характеризирание на овариални стволови клетки“

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:** Надя Петрова завършва като бакалавър Биологическия факултет към СУ през 2006г., специалност „Биология и химия“. Впоследствие изготвя дипломна работа по програма „Клетъчна биология и патология“, която отлично защитава и придобива квалификацията „магистър“. От октомври 2010г. е зачислена като редовен докторант към ИБИР-БАН. Има общо 8 научни публикации, 7 от които са непосредствено свързани с настоящия дисертационен труд (3 от тях са в списание с импакт фактор). Участвала е с доклади и постери в работата на 12 научни форума. Ръководител е на научноизследователски проект, финансиран по програма „Млади учени“, член е на колектива на други научно-изследователски проекти, вкл. един международен.

**Актуалност на темата:** Стерилитетът е значим медико-социален проблем, засягащ около 10-12% от двойките в репродуктивна възраст. В последните години за лечението му големи надежди се възлагат на използването на стволови клетки – за производство на гамети ин-витро, подобряване на рецептивността на ендометриума (респ. увеличаване шансовете за имплантация на ембриона), подобряване на овариалния отговор при стимулация и др. Дискусионен е въпросът за наличието на стволови клетки в яйчника и възможността за образуване на яйцеклетки в постнаталния период, което налага задълбочаване на изследванията в тази област. В този аспект считам, че темата на дисертационния труд е актуална и важна както за медицината (лечение на инфертилитета), така и за животновъдството и екологията с оглед разработването на техники за ин-витро получаване на яйцеклетки от ценни и изчезващи видове.

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

Дисертацията е написана на 121 страници и включва 28 фигури и 8 таблици. Структурирана е съгласно възприетите стандарти и се състои от Въведение – 2 стр., Литературен обзор от 35 стр., Цел и задачи на дисертационния труд – 1 стр., Материали и методи – 12 стр., Резултати и обсъждане – 32 стр., Заключение – 2 стр., Изводи и приноси – 2 стр. и Списък на използваната литература – 13 стр. и Приложения – 13 стр. Цитирани са 161 литературни източника, от които 4 на кирилица и 157 на латиница. Включен е и списък на 7 публикувани от дисертанта статии и 12 участия в научни форуми, всичките във връзка с дисертационния труд.

**Литературният обзор** е балансиран като структура и съдържание. Състои се от две основни части. В първата е представена информация за структурата на яйчника, фоликуло- и овогенезата,

ендокринната и паракринна регулация на тези процеси. Във втората докторантът дава подробна информация относно различните видове стволови клетки, възможностите за тяхното приложение и значението им за репродуктивната медицина. Специално внимание е обърнато на информацията и дебатите, касаещи евентуалното наличие на стволови клетки в яйчниците. Голямото количество информация е добре систематизирано, обобщено и онагледено с 4 фигури и 3 таблици. Представянето на разглежданите данни е ясно, направено е професионално и включва всички основни постановки, които са необходими за обосноваване и разбиране на извършените изследвания. Много 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 човешки и животински овариални клетки. Експериментите са проведени с разрешение на комитета по медицинска етика, което е приложено към дисертационния труд. В част от опитите са използвани също така мъжки гамети, човешки ембрионални стволови клетки, мезенхимни стволови клетки, изолирани от мастна тъкан. **Методичният подход** е адекватен на поставената цел и задачи и е изпълнен на много високо ниво. Дисертантът използва широк спектър методи за изследване – клетъчни култури, диференциация, криоконсервация, флоуцитометричен анализ и др. Протоколите са описани старателно и подробно, което позволява тяхната възпроизводимост и от други изследователи. 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. Проследени са процесите, протичащи при култивиране на овариалните клетки ин-витро. На базата на сравнителни изследвания са предложени подходящи среди и условия за култивиране и криоконсервация. Показана е възможността за използване на овариални клетки в системи за ко-култивиране.

Логично, основната част от раздела е посветена на изследвания върху наличието на стволови клетки в яйчника. Показано е, че малка част от овариалните клетки експресират маркери за плюрипотентност (SSEA-1, SSEA-4, Oct3/4, Nanog, Sox2), като тази експресия намалява с напредване на възрастта на пациентките. С помощта на съвременни методи (флоуцитометричен анализ, методи за индуцирана диференциация) авторът убедително доказва наличието и на мезенхимни стволови клетки в овариалните култури. Като допълнителен тест за качеството на овариалните фрагменти дисертантът е използвал съвременен и нов за нашата страна метод – ксенотрансплантация на човешка овариална тъкан на имунодефицитни мишки.

Получените данни са систематизирани, представени в графики и онагледени с достатъчно количество оригинални снимки и хистограми, потвърждаващи тяхната достоверност. Считаю, че

всички представени резултати са лично дело на автора. Дискутирането им е на много добър научен език и професионален стил, и е изключително убедително.

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, стегнато написани, отговарят на поставените задачи и отразяват адекватно получените резултати. Оценявам високо теоретичната и практическа стойност на представения труд и съм съгласен със сформулираните от автора оригинални и потвърдителни **приноси**.

**Авторефератът** е изготвен съгласно изискванията и отразява всички основни резултати и приноси на дисертационния труд.

В качеството си на завеждащ секция и научен ръководител ще си позволя да споделя и **лични впечатления** от работата на докторанта. Надя Петрова постъпи на работа в ИБИР с много добра теоретична подготовка в областта на молекулярната и клетъчна биология. По време на магистратурата си, а впоследствие и докторантурата, усвои редица съвременни методи за изследване и криоконсервация на гаметни, ембриони и стволови клетки. Освен задължителните и избираеми докторантски курсове, посети няколко допълнителни обучения по PCR (в Националната генетична лаборатория), флуоцитометричен анализ (в НЦЗПБ и Института по микробиология към БАН) и др. Доказателство за добрата и подготовка е фактът, че преди да излезе в отпуск по майчинство, работеше на допълнителен трудов договор 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 считам, 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 Надя Петрова образователната и научна степен „доктор“ по научна специалност „Развъждане на селскостопански животни, биология и биотехника на размножаването“.

10.12.2019г.

Изготвил Становището:

/доц. П.Тодоров, дбн/