

## СТАНОВИЩЕ

за оценка на дисертационен труд на тема „Определяне на семинално плазмени протеини свързани с процеса на капацитация” за придобиване на образователна и научна степен „Доктор” в област на висше образование 6.0 Аграрни науки и ветеринарна медицина, професионално направление 6.3 Животновъдство, научна специалност 04.02.01 „Развъждане на селскостопански животни, биология и биотехника на размножаването”.

**Автор: Цветан Стефанов Цветков**, докторант задочна форма на обучение, в секция „Репродуктивни биотехнологии и криобиология на гаметите“, Институт по биология и имунология на размножаването „Академик Кирил Братанов“, БАН, гр. София.

**Изготвил становището: проф. д-р Станимир Ангелов Йотов**, катедра „Акушерство, репродукция и репродуктивни нарушения”, Ветеринарномедицински факултет, Тракийски университет, Стара Загора, назначен за член на научно жури със заповед № 102/18.12.2020 год. на Директора на ИБИР-БАН, гр. София.

### 1. Кратки биографични данни за докторанта

Цветан Цветков завършва висше образование в Биологически факултет на СУ „Св. Климент Охридски“, гр. София през 2014 г. и придобива образователно-квалификационна степен бакалавър по „Молекулярна биология“. През същата година записва магистратура в СУ „Св. Климент Охридски“ в специалност „Биология на развитието“. От 2015 г. е дипломант в Институт по биология и имунология на размножаването „Акад. Кирил Братанов“, БАН, в секция „Репродуктивни биотехнологии и криобиология на гаметите“ с дипломен ръководител проф. д-р Мария Иванова-Кичева. През 2016 г. успешно защитава дипломна работа на тема „Изследване на различията в криотолерантността на фракционно получени сперматозоиди от кучета“ по специалност „Биология на развитието“ и започва работа като специалист-биолог в горепосочената секция, а по-късно същата година е назначен на академичната длъжност асистент. През м. януари 2017 г. полага успешно конкурсен изпит и е зачислен в докторантура задочна форма на обучение в секция „Репродуктивни биотехнологии и криобиология на гаметите“, ИБИР, БАН с научен ръководител доцент Деница Даскалова.

По време на докторантурата си Цветан Цветков ръководи и успешно защитава проект по програма „Млади учени и докторанти“- БАН, 2017 г. /ДФНП 17-28/, на тема „Определяне на семинално плазмени протеини при вида *Canis lupus familiaris*, оказващи ефект върху сперматозоидите при *in vitro* индуцирана капацитация“. През 2018 г. докторантът печели финансиране по проект „Млади учени и постдокторанти“- МОН, 2018-2020 г., на тема „Охарактеризиране на протеиновите молекули в семиналната плазма и проследяване на въздействието им по отношение на процесите на хиперактивация, капацитация и декапацитация“. В периода 2018-2020 г. е включен в научния екип по Национална научна програма „РЕПРОБИОТЕХ“.

Докторантът има издадени три научни публикации в реномирани научни списания и участие в единадесет научни форума. Владее писмено и говоримо английски и немски език.

## 2. Оценка на дисертационния труд

Репродуктивното здраве на мъжките животни е било и продължава да бъде предмет на усилено изучаване през последните години. Това е продиктувано от желанието семенната течност от един разплодник с ценни генетични качества да се използва за осеменяване на голям брой женски животни и да се съхрани генетичния потенциал за продължителен период от време. Получените еякулати се подлагат на допълнителна обработка, свързана с процесите на разреждане, охлаждане, замразяване, сексиране и съхранение под различна форма. Горепосочените процеси неминуемо оказват влияние върху функционалната активност, структурата и оплодителната способност на сперматозоидите. Анализът на литературата показва, че множество експерименти в тази област са насочени към изучаване на интимните процеси, свързани с оплодителната способност на спермалните клетки и производството на среди, осигуряващи оптималната им преживяемост.

Данните за влияние на спермалната плазма и нейните компоненти върху функционалните и морфологични особености на мъжките гамети имат важно значение. Те осигуряват ценна информация за механизмите, обуславящи кинематиката, капацитацията и декапацитацията на сперматозоидите, акрозомната реакция и сингамията. Интерес представлява изясняването на връзката между протеините в спермалната плазма и имунния отговор на женския организъм при попадане на мъжките полови клетки в женския полов апарат. Всичко горепосочено аргументира актуалността на темата на дисертационния труд.

Дисертацията е написана на 141 страници и структурирана както следва: Заглавна страница - 1 стр.; Съдържание - 1 стр.; Използвани съкращения - 2 стр.; Увод - 1 стр.; Литературен обзор - 37 стр.; Цел и задачи - 2 стр.; Материал и методи - 22 стр.; Резултати и дискусия - 36 стр.; Изводи - 1 стр.; Предложения за внедряване в практиката - 1 стр.; Използвана литература - 34 стр.; Статии свързани с работата по дисертационния труд - 1 стр. и Научни форуми - 2 страници. Материалът е онагледен със 14 таблици и 34 фигури. Така структурирана, тя отговаря на критериите за оформяне на дисертационен труд.

Във въведението авторът аргументира актуалността на темата на дисертационния труд, като посочва ролята на спермалната плазма за запазване биологичните свойства и оплодителната способност на мъжките гамети. На преден план е изведено важното значение на протеиновите фракции в спермалната плазма за процесите хиперактивация, капацитация и декапацитация на сперматозоидите.

Литературният преглед е правилно структуриран, всеобхватен и включва данни на водещи учени и колективи у нас и чужбина. Голяма част от цитираните литературни източници са от последните 10 години, което би могло да се приеме като доказателство за актуалността на разработката. Представени са детайлно състав на семенната течност, компоненти на спермалната плазма, протеинови фракции и тяхното участие в биологичните феномени капацитация и декапацитация. Тази част е много добре онагледена с подходящи фигури и схеми.

Дефинираната цел кореспондира с темата на дисертацията. Формулирани са четири основни задачи със съответните подзадачи.

Раздел „Материал и методи“ представя брой на животните, възрастовата и породната им принадлежност и брой на изследваните еякулати. Описанието на методите за изследване е подходящо и добре онагледено. Използвани са достатъчен брой съвременни и конвенционални методики за доказване на биологични ефекти.

Извършена е компютърна статистическа обработка на данните за установяване на тяхната достоверност. Това доказва способностите на докторанта за самостоятелна работа с научно-изследователски методи, получаване и обработка на резултати.

Раздел „Резултати и дискусия“ включва таблици и фигури, даващи представа за обобщените и статистически обработени данни. В хронологичен ред са представени резултатите от изпълнението на задачите. Сепарирани и характеризирани са отделните протеинови фракции в спермалната плазма от куче. Направен е опит за изясняване ролята на тези протеини при условия на *in vitro* индуцирана капацитация, определяне на влиянието на различните протеинови фракции върху мотилитет, скорост и хиперактивация на сперматозоидите, както и установяване на декапацитиращ ефект.

Обобщеният прочит на този раздел е индикативен за изпълнение на целта и поставените задачи и представлява основа за формиране на изводи. На базата на проведените изследвания, получените резултати и дискусията са формулирани 4 извода и направени предложения за внедряване в практиката.

Прегледът на библиографската справка показва, че използваните литературни източници са достатъчно на брой и имат връзка с темата на дисертацията. Представени са 329 автора, от които 2 на кирилица и 327 на латиница, като голяма част от тях описват опита на водещи колективи през последните години.

Във връзка с дисертацията са представени три статии - 2 бр. отпечатани в научни издания и една статия приета за печат. Докторантът е водещ автор в две публикации, които имат импакт фактор и втори автор в една публикация. Всички те имат отношение към разглежданата тематика. Резултатите са презентирани на единадесет научни форума.

Структурата и съдържанието на автореферата отговарят на изискванията и съответстват на дисертацията.

От представената документация се вижда, че докторантът покрива критериите за изпълнение на докторската програма.

### 3. Критични бележки

Представеният материал показва значителен обем на свършена работа от автора, усвояване на научно-изследователски методики и аналитично мислене. Въпреки това, могат да се направят някои бележки.

На много места в текста се откриват технически грешки, разлики в изписването на авторите и използване на неспецифична медицинска терминология.

Раздел „Резултати и дискусия“ е един от най-важните, който служи като основа за формулиране на изводи, приноси и препоръки за практиката. В първата част на този раздел съществуват редица описания на методи, които биха могли се включват в раздел „Материал и методи“. Авторът твърди, че еякулатите са получени от клинично здрави кучета и дава референция за нормални стойности както следва: концентрация на сперматозоидите  $20-40 \times 10^6$  кл/мл, рН 6,4-7 и подвижност  $\leq 70\%$  (стр. 67). На стр. 85 се твърди, че концентрацията на сперматозоидите е  $200-400 \times 10^6$  кл/мл. Тези резултати не са съпоставени и дискутирани с данни на други автори за този животински вид. Интерес би представлявало да се изясни, вярното твърдение и причината за високия процент на сперматозоиди с непрогресивни движения.

До задача № 3 е представена само резултативна част, но отсъстват елементи на дискусия и съпоставяне на получената информация с тази на други автори. При обединение на двата раздела е препоръчително дискусията да бъде имплементирана непосредствено след получените резултати за съответните задачи. Това прави текста по-лесен за четене и разбираем.

При представяне на резултатите едни и същи данни са дадени в табличен вид и на фигури. Прието е да се избере само един от двата начина, даващ по-детайлна информация. Прави впечатление, че в легендата за нивата на достоверност в таблици 5, 9, 11, 12, 13 и 14 е изписано ниво на достоверност  $P < 0.001$ , но липсват маркирани стойности с посочения суперскрипт. Включването на заключителен анализ в края на раздела би аргументирал по-добре направените изводи. Формулирането и класификацията на приноси би позволило да се разбере, дали има елементи с оригинален или потвърдителен характер.

При изготвяне на литературната справка е необходимо изписването на публикациите да става по приетия у нас стандарт, като на първо място се представят тези на кирилица.

Направените критични бележки в никакъв случай не омаловажават достойнствата на дисертационни труд. Те имат за цел да помогнат на докторанта в бъдещата му научна дейност.

### **Заклучение**

Представената дисертация на тема „Определяне на семинално плазмени протеини свързани с процеса на капацитация“ е завършен труд с фундаментална и научно-приложна стойност. Структурата, съдържанието и представянето на материала отговарят на изискванията за оформяне на дисертационен труд, посочени в ЗРАСРБ, ППЗРАСРБ и ППЗРАС на БАН, София.

Това е основание за положителна оценка и предложение към Уважаемите членове на Научното жури да гласуват положително за присъждане на образователната и научна степен „Доктор“ в област на висше образование 6.0 Аграрни науки и ветеринарна медицина, професионално направление 6.3 Животновъдство, научна специалност „Развъждане на селскостопански животни, биология и биотехника на размножаването“ на Цветан Стефанов Цветков.

12.02.2021 год.

Стара Загора

Изготвил становището:.....

/проф. д-р Станмир Йотов/