

РЕЦЕНЗИЯ

от

проф. Михо Семков Михов, дн
Член на научно жури, назначено със заповед на Директора №89 от
11.03. 2015 г.

Институт по биология и имунология на размножаването „Акад. К.
Братанов“
Българска Академия на Науките

Рецензията се отнася до разкрит конкурс за придобиване на академична длъжност - доцент по научна специалност 04.02.01. „Развъждане на селско-стопански животни, биология и биотехника на размножаването“, професионално направление 6.3. „Животновъдство“, област на висше образование 6. „Аграрни науки и ветеринарна медицина“, обявен в Държавен вестник, бр. 7, от вторник, 27.01.2015 година за нуждите на Института по биология и имунология на размножаването „акад. Кирил Братанов“ - БАН, гр. София.

На обявения конкурс в ДВ, бр. 7, от 27.01.2015 г. документи за участие е подала гл. асистент Деница Боянова Даскалова, Ph.D., от секция „Репродуктивни биотехнологии и криобиология на гаметите“ към Института по биология и имунология на размножаването „акад. Кирил Братанов“, която е единствен кандидат.

Кандидатката е завършила висше образование в Биологическия факултет към Софийски университет „Св. Климент Охридски“ през 2005 г., с професионална квалификация „Биология“ и Магистър по „Биология на развитието“.

Главен асистент Деница Даскалова работи в ИБИР от 2005 г. и се включва активно в научноизследователската дейност на секцията като усвоява и прилага практически нови и съвременни методики за анализи на клетъчно, субклетъчно и молекулярно ниво на половите клетки като: хроматографски методи за изолиране и пречистване на Анексин V от свинска плацента и белязане с флуорохроми за откриване на мембранни дисфункции; използване на 6-карбокси-флуоресцеиндиацетат (6CFDA) за маркиране жизнеспособността на сперматозоидите, морфологичен анализ чрез Rhodamina 123 за установяване на нефункционалност на митохондриите, умение да се работи с различни хроматографски методи (HPLC) за качествена и количествена характеристика на протеини от семинална плазма (СП), уимунохимични методи за анализ като SDS-PAGE, BLOT и 2Д-електрофореза, масспектрометрия за протеинова идентификация и др.

Тези съвременни методики изискват модерна апаратура и изключителна прецизност, сръчност и компетентност в тяхното прилагане, качество, което безспорно кандидатката притежава. Благоприятното съчетаване на тези качества с творческата дейност в секцията ѝ позволяват в относително кратък период да разработи и успешно да защити дисертация на тема: „Анализ на плазмената мембрана и биологичния потенциал на сперматозоиди от вида *нерез* при *invitro* съхранение на ниски температури” с ръководител проф. д-р М. Иванова, дн (2013 г.), за което ѝ е присъдена образователна и научна степен - Доктор(Ph.D.).

За настоящият конкурс за заемане на академична длъжността – „доцент”, кандидатката представя 25 научни публикации, отпечатани в 10 чуждестранни и 15 български списания с общ IF- 7.673 и 21 участия в постери и доклади на национални и международни форуми.

Основни направления на научноизследователска дейност на д-р Д. Даскалова са:

Първо:

Изследвания за влиянието на нискотемпературното съхранение, криоконсервацията и индуцираната капацитация върху плазмената мембрана (ПМ) и вътреклетъчните структури на сперматозоиди от коч. Общо 9 публикации (9, 11,12, 13, 16, 17, 18, 24, 25).

За целта плавилно са използвани като донори кочове от породите „Плевенска черноглава“ и „Източно-фризийска“- основни породи на настоящето и бъдещо млечно овцевъдство в страната.

С изследванията в тази област се правят следните научни приноси:

- Установява се, че криоконсервацията понижава достоверно ($p < 0.001$) преживяемостта на сперматозоидите от коч след размразяване. При сравнителен анализ чрез термична проба между замразени и незамразени сперматозоиди се доказва се, че на 300-та мин. само $6.16 \pm 4.24\%$ от замразените сперматозоиди се запазили своята подвижност, докато при незамразените този процент е $40.00 \pm 13.81\%$. Потвърдителен принос.
- Криоконсервацията уврежда в най-висока степен структурата на акрозомата. Наблюдават се предимно сперматозоиди с набъбнала акрозома ($34.35 \pm 5.48\%$), при $15.06 \pm 5.14\%$ е установена разкъсана акрозома. Промените в шийката, тялото и опашката са $8.57 \pm 2.14\%$. Потвърдителен принос.

Голям научен интерес будят изследванията за влиянието на ултраниските температури и индуцирана капацитация върху поведението на фосфатидилсерина (ФС) в ПМ на сперматозоидите.

Установява се мембранна транслокация на ФС, който се експерсира от вътрешния към външния полуслой на ПМ. При тази транслокация се нарушава липидно-протеиновите взаимодействия и активността на мембранно-свързаните ензими. В резултат се понижава функционалната и оплодителна способност на криоконсервираните гаметите. Докато при индуцирана капацитация, транслокацията на ФС върху повърхността на ПМ е в областта на акрозомата, а при криоконсервацията е в областта на тялото и тази транслокация не повлиява върху функционалността на гаметите.

Важен момент е установяването на уврежданията митохондриалния трансмембранен потенциал, като след криоконсервация достоверно намалява процентът на сперматозоиди с функционални митохондрии.

С тези изследвания се прави опит да се разкрие механизма на увреждане на гаметите при криоконсервация. Тези изследвания са с оригинален научен принос.

Второто направление на научните изследвания е за влиянието на различни спермално плазмени протеини (СПП) върху морфофункционалния интегритет на сперматозоидите от нерез и коч, съхранявани в условия на ниски температури (2,3, 5, 6, 7, 8, 10,19, 20).

СП е уникална биологична течност с изключително сложен състав, която запазва морфологичната цялост, биологичните качества и оплодителна способност на гаметите след еякулация.

Със своите изследвания гл. ас. Деница Даскалова установява 12 протеинови фракции с ММ от 10 до 200 кДа (6). Доказва се, че СПП с висока ММ (от 55 до 200кДа), както и тези с ММ от 20 до 97 кДа нямат протективно действие върху сперматозоидите спрямо ниските температури (+4°C), докато СПП с ММ от 16 до 29 кДа проектират достоверно сперматозоидите. Изолирането и характеристиката на нискомолекулни СПП от нерез с доказан протективен ефект върху мотилитета, виталитета и скоростните параметри на сперматозоиди от нерез при нискотемпературно съхранение е оригинален научен принос.

Изключително важени за практиката са изследванията върху причините за ниска или висока криотолерантност гаметите от различни нерези. Установява се, че при нерези с висока криотолерантност на сперматозоидите (над 40% подвижност след размразяване в еякулатите) се съдържат специфичен протеин

принадлежащ към групата на лактоферина (lactoferrin), а при еякулати с ниска криотолерантност се съдържа друг специфичен протеин, идентифициран като хексоаминодаза В (hexoamidase B or Brolyureptide). Това е оригинален научен принос, който може да намери практическо приложение за прогнозиране на криотолерантната способност на отделните яекулати.

С изследванията за влиянието на ниските температури върху сперматозоиди от коч (4-5°C и -196°C) се потвърждава, че гаметите са крионеустойчиви и това се съпровожда с нарушаване на тяхната морфофункционалност, интегритет и оплодителна способност.

Установява се, че някои СПП с ниска ММ (под 30 кДа) протектират по-успешно гаметите и съхраняват в по-висока степен мотилитета и скоростните параметри на сперматозоидите след нискотемпературно съхранение (5, 7, 8, 10, 20). От проучването за механизма на криопротекция на СПП с ММ от 14-20 кДа се установява, че ефектът е в резултат на специфична имуноцитохимична локализация върху ПМ в областта на акрозомата, постакрозомалния домен и тялото на сперматозоидите (10, 25). Това са нови оригинални приноси за състава на СПП от коч и криопротективните свойства на някои от тях.

Трето направление на научноизследователската дейност на д-р Деница Даскалова е върху сепарирането на липопротеини от яйчен жълтък (ЯЖ) и проучванията за възможни взаимодействия между сепарираните липопротеини и протеини от СП, с оглед протективно действие при нискотемпературно съхранение на гамети от коч, нерез и биволски бици (14, 15, 16, 20, 22, 23).

От ЯЖ са сепарирани две групи липопротеини - фракция 1 (водно разтворими-ливетини и фракция 2 - липовителини). Установява се, че липопротеините от фракция 1 имат по-добра криопротективна способност, при съхранение на сперматозоиди от коч. Обяснението е, че настъпва свързване на тези липопротеини с повърхностно мембранните протеини на сперматозоидите. Същият протективен ефект се получава и при нискотемпературно съхранение на сперматозоиди от нерез (14).

За първи път е направен анализ на взаимодействието на нискомолекулни протеини от СП от нерез и липопротеини от ЯЖ и формирането на нова биоконформационни структури с ММ между 12.4 и 29 кДа, която има протективни свойства. Това е оригинален принос.

Освен посочените 25 публикации за участие в конкурса гл. ас. Деница Даскалова е представила доклади, абстакти, постери от 32

участия в национални и международни научни форуми. От общо 33 публикации, тя е бодеш автор в 9 от тях. Общия IF е 11. 405.

На фона на перфектната научна продукция биха могли да се направят и някои бележки, с цел постигане на по-голямо съвършенство в бъдеще на научната продукция като:

- В списъка на научните публикации за конкурса като чуждестранни са посочени 1, 2 и 5, а те са български.
- В някои публикации са използвани някои неправилни термини като: събиране на сперма или еякулати, вместо получаване; семинална плазма, вместо спермална плазма.
- Липсва самостоятелна научна публикация въпреки очевидната възможност и способност за такава изява.
- В публикация 16 погрешно са отразени резултати в таблица 2 за живите сперматозоиди на 10 минута.
- Няма проведен нито един биологичен опит т.е. изкуствено осеменяване на свине или овце със сперма съхранявана с новите биологични криопротектори.
- Добре би било да се активизира отпечатване на публикации в реномирани списания, които да повишат цитируемостта на научните постиженията на гл. ас. Деница Даскалова.
- Позволявам си да препоръчам на гл. ас. Деница Даскалова в бъдещата си дейност да установи по-тесни контакти за оказване помощ и контрол, за подобряване и усъвършенстване на репродуктивните биотехнологии в свиневъдството и овцевъдството, което би повишило нейния научен престиж и известност в страната.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ:

Задълбоченият прочит на научните трудове и обективен анализ на цялостната научноизследователска дейност на гл. ас. д-р Деница Боянова Даскалова недвусмислено показват, че тя се утвърждава като ерудиран млад учен с големи изследователски възможности.

Извършените изследвания и направените приноси ще допринесат за усъвършенстване и повишаване на ефективността на репродуктивните биотехнологии в животновъдството в България.


Представените научни трудове и справка за научни и приложни приноси отговарят на наукометричните показатели и препоръчителни изисквания, които ИБИР има за придобиване на академичната длъжност „доцент”.

С пълна убеденост си позволявам да препоръчам на членовете на научното жури да гласуват за присъждане на гл. ас. д-р Деница

Боянова Даскалова академичната длъжност „доцент“, по научна специалност с шифър 04.02.01. „Развъждане на селско-стопански животни, биология и биотехника на размножаването“, професионално направление 6.3. „Животновъдство“, област на висше образование 6. „Аграрни науки и ветеринарна медицина“.

11.05.2015 г.

гр. София

Рецензент: 

/проф. Михо Семков, дн/