



## СТАНОВИЩЕ

от Проф. д-р Недка Любомирова Трифонова, дм, Медицински Университет – София,  
Медицински факултет, Катедра по биология

на дисертационен труд за присъждане на ОНС “доктор” по научната специалност: “Имунология” шифър 01.06.23, професионално направление 4.3. “Биологични науки”, област на висше образование 4. Природни науки, математика и информатика

**Автор:** главен асистент Силвина Запрянова Запрянова

**Форма на докторантурата:** докторант на свободна подготовка

**Секция** „Имунобиология на репродукцията“ при ИБИР-БАН

**Тема:** Роля на протеините на топлинния стрес в процесите на сперматогенеза и апоптоза

**Научен ръководител:** Доц. Павел Рашев

### 1. Общо описание на представените материали

Със заповед (№ 166/25.04.2017 г.) на Директора на ИБИР-БАН, София, съм определена за член на научното жури по процедурата за защита на дисертационния труд на главен асистент Силвина Запрянова Запрянова. Представеният ми комплект материали на хартиен и електронен носител е в съответствие с Процедурата за придобиване на ОНС „доктор“, съобразно Правилника за условията и реда за придобиване на научни степени и заемане на академични длъжности в БАН – София, и включва всички необходими документи.

Рецензията е изготвена въз основа на представен дисертационен труд в обем 170 стандартни страници, 52 фигури, 7 таблици и Автореферат, в обем 38 страници. Дисертацията е структурирана по правилата за изготвяне на дисертационен труд. Прочитът ѝ остава общо впечатление на добре замислено, планирано и завършено научно изследване.

## **2. Кратки биографични данни за докторанта**

Силвина Запрянова Запрянова е завършила висше образование през 2002г. в Биологическия факултет към Пловдивски университет "Паисий Хилендарски" като бакалавър по специалността "Биология и химия", а през 2004г. завършва Магистърска програма "Клетъчна биология и патология" към Биологичен факултет на Софийски университет "Св. Климент Охридски". От 2006г. тя работи в секция "Имунобиология на размножаването" в ИБИР – София, БАН, отначало като специалист биолог, а от 2007 г. като асистент, а по-късно главен асистент към същата секция. От 2013 г. Силвина Запрянова е зачислена като свободен докторант. В изпълнението на докторската си програма и разработването на дисертационния труд тя проявява отговорност и последователност и на 23.06.2016 г. е отчислена с право на защита. Участвала е в два научни проекта, финансирани от външни за България източници и с 20 научни съобщения в български и международни научни форуми. На Международен Симпозиум по Имунология на Репродукцията, 2015г. е спечелила награда за един от най-добрите постери.

## **3. Актуалност на тематиката**

Темата на дисертационния труд е актуална, тъй като е свързана с етиопатогенезата на безплодието - проблем, който има безспорно медицинско и социално значение в световен мащаб и у нас. Безплодните двойки са 10 - 15% от всички семейни двойки. Причините за безплодието са от най-различно естество (начин на живот, злоупотреба с алкохол и тютюнопушене, токсична среда, и др). и сред тях делът на мъжкия фактор е относително висок (30-40%). През последните десетилетия нарастна интересът към ролята на стресовите протеини в различни физиологични и патологични състояния при човека, но данните за участието им в репродуктивния процес са оскъдни. Експресията на гените за нискомолекулните стресови протеини и ролята им в процесите на делене, диференциация, зреене, апоптоза и функциониране на мъжките полови клетки е слабо проучена. Изследванията относно влиянието на стресови фактори, какъвто е топлинният стрес и изучаването на термо-индуцираната апоптоза в тестиса са от голям интерес за установяване на ролята им във физиологията на тестиса и развитието на мъжкия инфертилитет.

#### **4. Познаване на проблема**

От задълбочения литературния обзор личи много добро познаване на проблема и цитираната литература, която обхваща 297 литературни източника, повечето от които са от последните 15 години. Авторът детайлно анализира съвременните данни за структурата и ролята на белтъците на топлинния стрес като шапероновы молекули, връзката им с фактори, участващи в транскрипцията и апоптозата. Докторантката обръща особено внимание на съвременната информация относно механизмите на контрол на термо-индуцираната апоптоза, на шапероновата функция и стадийно-специфичната експресията на стресовите протеини HSP70 и на alpha-B crystallin в репродуктивната система. Тя обосновава необходимостта от задълбочено изследване на влиянието на високата температура върху репродуктивните тъкани и органи и ролята на стресовите протеини за съдбата на особено чувствителните на температурни въздействия мъжки герминативни клетки. Оскъдните литературни данни относно молекулните механизми на регулация на процесите на пролиферация и апоптоза в тестисите мотивират целта на дисертационния труд, а именно – да се проучи участието на белтъците на топлинния стрес HSP70 и alpha-B crystallin и на някои про- и анти-апоптотични фактори (Bax, Bcl-2, p53, procaspase-3) в механизмите на клетъчна диференциация, матурация и апоптоза в тестиси и епидидимиси от мишка. За реализация на целта, докторантът си поставя 7 адекватни и ясно формулирани задачи.

#### **5. Обем и методология на изследването**

За провеждане на проучването са използвани 90 мъжки конвенционални мишки линия Balb/c, разпределени в три възрастови групи, от които са взети семенници, надсеменници и зрели сперматозоиди и са разпределени в експериментална група (инкубирани при висока температура) и контролна група (инкубирани при условия на нормално протичане на гаметогенезата). Приложените методи за индуциране на топлинен стрес ин vivo и ин vitro, трансмисионна електронна микроскопия, имунохистохимия и имунофлуоресценция, количествено изследване на генната експресия, SDS-PAGE, двумерна електрофореза и имуноблот са описани детайлно. Те са умело съчетани и позволяват изпълнението на поставената цел и произтичащите от нея задачи. Високо оценявам труда, който е вложила докторантката в личното усвояване, прилагане в научната си разработка и



интерпретиране на големия набор от съвременни молекулярно-генетични, морфологични, имунохимични, физикохимични методи и опити с експериментални мишки, както и на отличната фото-документация на получените резултати.

## **6. Характеристика и оценка на дисертационния труд и приносите**

Дисертационният труд е написан на общо 170 страници и е структуриран по общоприетия начин с разделите: въведение – 1 с., обзор – 49 с., цел и задачи – 1с., материал и методи – 25 с., Резултати – 33 с., Дискусия – 29 с., Изводи – 1с., Приноси – 1с., Библиография – 17 с., Приложения – 1 с.

Дисертационният труд е онагледен с 52 фигури и 7 таблици, които са информативни и не се преповтарят детайлно в текста. Резултатите са представени последователно така, както логично е следвало самото проучване и съответстват на основните задачи. Включени са в 7 основни раздела, в които те са описани детайлно и онагледени с висококачествени снимки. Проведени са следните изследвания:

- хистологичната характеристика на тестиси и епидидимиси от групите мишки
- ултраструктурна характеристика на тестис и епидидимис на мишки след еднократно топлинно въздействие, която потвърждава увреждащия ефект на топлинния стрес върху сперматогенезата при бозайници
- определяне на локализацията и физико-химична характеристика на HSP70 при трите групи мишки в условия на спонтанна и термо-индуцирана апоптоза чрез SDS-PAGE и двумерна електрофореза с последващ имуноблот
- проследяване локализацията и генната експресия на алфа-B кристалин (фосфорилирана и нефосфорилирана форма) в условия на хипертермия
- генната експресия на белтъци на топлинния стрес и някои маркери за апоптоза
- проследяване на локализацията на някои про-апоптотични и анти-апоптотични маркери при мишки
- локализация на апоптотични маркери в тестиси на инфертилни пациенти с крипторхизъм

Приемам **изводите** от дисертационния труд. Те съответстват на поставените цел и задачи и отразяват коректно дизайна и резултатите от разработката.

Оригиналните приноси с най-съществена значимост, са следните:

Доказана е регион-специфична и клетъчно-специфична конститутивна експресия на  $\alpha$ B-crystallin в репродуктивни органи на мишка.

2. Модифициран е метод за имуохистохимична локализация на HSP70, Bcl-2 и p53 върху полу-тънки срези, който е комбинация между процедура за включване на материал за електронна микроскопия и светлинно-

1. Доказана е регион-специфична и клетъчно-специфична конститутивна експресия на alpha-B кристалин в репродуктивните органи на мишка. Приносът е с фундаментален характер.

2. Модифициран е метод за умохистохимична локализация на HSP70, Bcl-2 и p53 върху полу-тънки срези. Приносът е с методичен характер.

#### **7. Автореферат**

Съдържанието на автореферата отговаря на това на дисертацията. Изготвен е в обем от 38 страници, като са спазени изискванията на ИБИР-БАН за този вид научен труд. Включени са 29 фигури от дисертацията, списък на съкращенията, списък на публикации и участия в научни прояви.

Представени са копия от научните трудове, отразени в автореферата

#### **8. Научни трудове, отразени в автореферата на дисертацията**

Гл. ас. Запрянова е представила копия на 2 публикации на английски език, на една от които е първи автор и е в списание с IF – 1.843. Публикационната активност на докторантката съответства на изискванията за придобиване на ОНС “доктор”.

Представени са също копия на резюмета от участия в общо 3 научни форума, 2 от които са международни конференции с публикувани резюмета в списание с импакт фактор.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Дисертационният труд на гл. асистент Силвина Запрянова Запрянова съдържа научни и приложни резултати, които представляват оригинален принос в науката и отговаря на изискванията на Закона за развитие на академичния състав в Република България, Правилника за неговото прилагане и Специфичните изисквания за научната степен Доктор на ИБИР-БАН. Тя показва качества и възможности за самостоятелно провеждане на научно проучване. Убедена съм, че получените интересни резултати ще бъдат основа на бъдещи научни разработки в тази област. Обемът и качествата на дисертационния труд и отлично положените изпити за докторантски минимум доказват, че докторантката притежава теоретични знания и професионални умения по научната специалност. Поради гореизложеното, давам своята положителна оценка, гласувам с пълно убеждение с “ДА” и препоръчвам на уважаемото жури да гласува с “ДА” за присъждане на образователната и научна степен “ДОКТОР” на гл. асистент Силвина Запрянова Запрянова по научната специалност: “Имунология” **шифър 01.06.23**, професионално направление 4.3. “Биологични науки”, област на висше образование 4. Природни науки, математика и информатика.

31. 05. 2017 г.

Проф. д-р Недка Любомирова Трифонова, дм :

