

РЕЦЕНЗИЯ

от проф. д-р Василий Щерев Ишев – пенсионер, Медицински университет – Пловдив

Със Заповед №Р33-1102/20.03.2017 г. на Ректора на Пловдивски университет „Паисий Хилендарски” съм определен за член на Научно жури по процедура за защита на дисертационен труд:

„Използване на митохондриални маркери за оценка на човешки сперматозоиди”

за придобиване на образователна и научна степен „доктор”.

Област на висше образование: **4. Природни науки, математика и информатика”**.

Професионално направление: **4.3. Биологични науки**.

Докторска програма **Клетъчна биология**.

Автор: **Владимир Тодоров Стайков** – задочен докторант към Катедрата по биология на развитието при Биологичен факултет на Пловдивски университет „Паисий Хилендарски”.

Научен ръководител: **проф. д-р Балик Маломиров Джамбазов** от Пловдивски университет „Паисий Хилендарски”.

1. Общо описание на представените материали.

Представеният от Владимир Тодоров Стайков комплект материали на хартиен и електронен носител е в съответствие с чл. 36 (1) от Правилника за развитие на академичния състав на ПУ и включва следните документи:

-молба до Ректора на ПУ за разкриване на процедура за защита на дисертационен труд;

-автобиография в европейски формат;

-копие на Диплома за висше образование от ПУ „Паисий Хилендарски” – ОКС „магистър”, специалност „Микробни биотехнологии” и професионална квалификация „биотехнолог”;

-копие на Заповед РЗЗ-217/23.01.2012 г. за зачисляване на задочна докторантура и копие на Заповед РЗЗ-1181/30.03.2015 г. за промяна в темата на дисертационния труд;

-копие на Заповед РЗЗ-1074/14.03.2016 г. за отчисляване от докторантура с право на защита;

-копие на Заповед №86/11.06.2012 г. за назначаване на Комисия за провеждане на изпит за докторантски минимум по „Клетъчни култури” и копие от Протокол от 14.06.2012 г. от проведения изпит с оценка Отличен (6);

-копие на Заповед №114/22.11.2012 г. за назначаване на Комисия за провеждане на изпит за докторантски минимум по „Флуцитометрия” и копие от Протокол от 29.11.2012 г. от проведения изпит с оценка Много добър (5);

-копие на Заповед №159/25.02.2013 г. за назначаване на Комисия за провеждане на изпит за докторантски минимум по „Клетъчни и молекулни механизми на автоимунните заболявания” и копие от Протокол от 28.02.2013 г. от проведения изпит с оценка Отличен (6);

-копие на Протокол №333/30.01.2017 г. на Катедрения съвет на Катедрата по биология на развитието за дата и място за провеждане та предварително обсъждане на дисертационния труд на Владимир Тодоров Стайков;

-копие на Протокол №334/17.02.2017 г. на Катедрения съвет на Катедрата по биология на развитието от Вътрешната защита на дисертационния труд на Владимир Тодоров Стайков;

-дисертационен труд;

-автореферат;

-списък на научните публикации по темата на дисертацията и участие в научни форуми във връзка с дисертацията;

-копия на научните публикации;

-декларация за оригиналност и достоверност на приложените документи;

-справка за спазване на специфичните изисквания на Биологичен факултет при ПУ за придобиване на образователна и научна степен „доктор”.

Докторантът е приложил две публикации в пълен текст на английски език, на които е водещ автор – едната публикувана в Годишника на Софийски университет „Климент Охридски”, а другата е приета за публикуване.

2. Кратки биографични данни за докторанта.

Докторантът Владимир Тодоров Стайков е завършил средното си образование в гр. Пловдив през 2004 г. в Пловдивски университет „Паисий Хилендарски” от 2004 г. до 2008 г. завършва бакалавърска програма по специалност Молекулярна биология (редовна форма), от 2008 г. до 2010 г. – магистърска програма по специалност Микробни биотехнологии (задочна форма) с отличен успех, а от 2012 до 2016 г. – докторска програма Клетъчна биология (задочна форма) с отличен успех. От 2009 г. и досега работи като биолог в Андрологична лаборатория и Изследователско звено при Медицински център за асистирана репродукция „Надежда репродуктив” – София.

Докторантът е изпълнил успешно предвидената образователна и научна програма. Притежава много добра езикова подготовка и компютърни умения. Професионалната дейност на докторанта има отношение с процедурата за придобиване на образователната и научна степен „доктор” по цитираната по-горе програма.

3. Актуалност на тематиката и целесъобразност на поставените цел и задачи. Ролята на митохондриите на половите клетки и ранните ембриони за възникването на имплантационни несполуки при асистираната репродукция през последните години буди нарастващ интерес. Това означава, че темата на дисертационния труд е актуална. Идеята е да бъдат проучени митохондриалните сперматозоидни показатели и на тази основа да бъде разработен и въведен в практиката *модел* за оценка и селекция на използваните при *in vitro* процедури сперматозоиди, който би осигурил успешно имплантиране на производните им ембриони.

4. Структура на дисертационния труд. Структурата е съобразена с общоприетия модел за този вид труд. Дисертацията е написана на 115 страници и съдържа: заглавна страница, 40 използвани съкращения, въведение – 1 стр., литературен обзор – 16 стр., цел и задачи – 1 стр., материал и методи – 20 стр., резултати и дискусия – 61 стр., изводи – 2 стр., допълнителни изводи и връзки, пряко свързани с практиката в клиника *in vitro* – 1 стр., научни приноси на дисертационния труд – 2 стр., списък на научните публикации, свързани с дисертацията 1 стр. и литература – 19 стр. Литературният указател включва 127 литературни източника на латиница, от които 28 (22%) от последните 10 години. Дисертационният труд е много добре онагледен с 29 таблици и 64 фигури.

Литературният обзор е широк преглед на литературата по темата на дисертацията. Той показва отличната литературна осведоменост и аналитичните способности на докторанта. Обзорът е сполучлив опит за обосновка на разкриването на взаимовръзки между стандартните показатели на спермограмата и важни митохондриални показатели.

На тази основа **целта** на дисертационния труд е ясно и точно дефинирана. За нейното постигане прецизно и изчерпателно са формулирани пет **задачи**.

5. Материали и методи. Изследвани са 97 мъже на възраст от 24 до 45 години, участващи в *in vitro* процедури при асистирана репродукция, на които са проведени стандартен спермален анализ и е проучен митохондриалния статус на сперматозоидите, използвани за ICSI. За оценка на митохондриалния статус са приложени методи с висока информативна стойност: биолуминисцентен тест за количествено определяне на АТФ и флуоцитометричен анализ за определяне на митохондриален мембранен потенциал, митохондриална маса и супероксидни (кислородни) радикали. Резултатите са подложени на статистически анализ. За изследване на взаимовръзките между отделните показатели при разработването на прогностичния модел са приложени корелационен, дескриптивен и регресионен анализ. Получените резултати са съпоставени с резултатите от ICSI-процедурите – наличие на оплождане, категоризиране на зиготите и морфологичен анализ на 165 ранни ембриони преди ембриотрансфера. Най-важният показател за практическата стойност на разработения прогностичен модел е позитивният тест за бременност. Можем да обобщим, че работата е изпълнена на съвременен методично ниво и с достатъчен брой единици за наблюдение.

6. Анализ и оценка на получените резултати.

Представените резултати следват логично и последователно поставените задачи. Обемът на изследвания материал е напълно достатъчен за да се приеме, че получените резултати са достоверни. Богатият илюстративен материал не само онагледява резултатите, но има и съществена доказателствена стойност. Установени са корелационни зависимости между митохондриалните показатели и стандартните параметри на спермограмата, между митохондриалните показатели както един спрямо друг, така и по отношение качеството на зиготите, предимплантационните ембриони и успешното им имплантиране в маточната лигавица.

Дисертационният труд е задълбочено и мащабно научно изследване, довело до правилно изведени и точно формулирани изводи, по-важните от които са:

-Установена е силна позитивна връзка между изследваните митохондриални показатели и нормалната морфология и подвижността на сперматозоидите;

-Митохондриалната маса корелира пряко и най-вероятно определя митохондриалния мембранен потенциал;

-Сперматозоидите, водещи до нормално оплождане, показват по-високи нива на изследваните митохондриални показатели;

-Липсата на оплождане на яйцеклетките се свързва с по-ниски нива на вътреклетъчния АТФ в сперматозоидите;

-Сперматозоидите, довели до образуване на ембриони с добро качество, са с повишени стойности на митохондриална маса и митохондриален мембранен потенциал и понижени стойности на супероксидни (кислородни) радикали;

-Сперматозоидите, дали началото на успешно имплантирани ембриони, се характеризират с по-високи стойности на АТФ, митохондриална маса и митохондриален мембранен потенциал.

-По-висок процент зиготи и ембриони с добро качество, както и успешно имплантирани ембриони, се намират в групата с нисък АТФ.

При разработването на прогностичния модел за оценка и селекция на използваните при *in vitro* процедури сперматозоиди, с оглед успешното имплантиране на производните от тях ембриони, докторантът прави извода, че единственият подходящ показател е изменението на митохондриалната маса (dMM). Останалите митохондриални показатели – АТФ, митохондриален мембранен потенциал и супероксидни (кислородни) радикали нямат необходимата сила да бъдат включени в прогностичен модел, обвързан с позитивен тест за бременност, тъй като се характеризират с лесно изменение на стойностите.

7. Приноси и значимост на дисертационния труд за науката и практиката. Приносите на дисертационния труд на докторанта обогатяват науката с нови оригинални данни и имат потенциално значение за клиничната практика при асистираните репродуктивни технологии.

Оригинални научни приноси.

1. Установени и описани са взаимовръзките между митохондриалните показатели и стандартните параметри на спермограмата.

2. Разгледани, анализирани и описани са взаимовръзките на митохондриалните показатели един спрямо друг.

3. Установените взаимовръзки между митохондриалните показатели и качеството на зиготите дават възможност за

използване на отчетените нива на АТФ в сперматозоидите за прогнозиране на морфологичното качество на получените зиготи.

4.Анализиран и описан е ефектът от митохондриалните показатели на сперматозоидите върху качеството на получените от тях зиготи и ембриони.

5.Открита е връзка между митохондриалния статус на сперматозоидите с успеха на процедурата. За първи път е установена силна връзка на митохондриалната маса с вероятността за успешна трансплантация.

Изведени са и три научни приноса с **потвърдителен характер.**

8. Преценка на публикациите по дисертационния труд.

Докторантът е приложил две статии в пълен текст на английски език, в които е първи автор. Те съдържат фрагменти от дисертационния труд и са на високо научно ниво. Участвал е в научен форум в Португалия с презентация по темата на дисертацията.

9. Личното участие на докторанта в разработването на дисертационния труд е безспорно. Експериментът е добре обмислен и прецизно проведен и показва задълбочената теоретична и практическа подготовка на докторанта. Той умело анализира получените резултати в светлината на литературните данни като отчита възможностите за практическото приложение на установените от него зависимости.

10. Авторефератът като неразделна част от дисертацията отразява в резюмиран вид основните й положения и дава реална представа за проведените изследвания, получените резултати и направените изводи. Оформен е в съответствие с дисертационния труд и е също така много добре онагледен.

Към докторанта нямам забележки, препоръки и въпроси.

11. Заключение. Дисертационният труд съдържа научни и научно-приложни резултати, които представляват оригинален принос в науката и отговарят на всички изисквания на Закона за развитие на академичния състав в Република България, Правилника за прилагането му и съответния Правилник на ПУ „Паисий Хилендарски”. Представените материали напълно съответстват на специфичните изисквания на Биологичния факултет, приети във връзка с Правилника на ПУ за приложение на ЗРАСРБ.

Докторантът Владимир Тодоров Стайков притежава задълбочени теоретични знания и професионални умения по научната специалност Клетъчна биология, обосновава научни задачи и прилага съвременни методи, чрез които постига решаването им, успешно анализира получените резултати и формулира достоверни изводи. Така той доказва, че има необходимите качества за самостоятелно провеждане на научно изследване.

Имайки предвид гореизложеното, давам своята положителна оценка на представения ми за рецензиране дисертационен труд, автореферат, постигнати резултати и научни приноси и **убедено предлагам на почитаемото научно жури да присъди образователната и научна степен „доктор” на Владимир Тодоров Стайков** в област на висше образование: 4. Природни науки, математика и информатика”, професионално направление: 4.3. Биологични науки, докторска програма Клетъчна биология.

Пловдив, 10.04.2017 г.

РЕЦЕНЗЕНТ:

(проф. д-р В. Ишев)