

РЕЦЕНЗИЯ

от д-р Теодора Атанасова Стайкова – професор в ПУ „Паисий Хилендарски”
на дисертационен труд за присъждане на образователната и научна степен 'доктор'

в област на висше образование 4. Природни науки, математика и информатика
професионално направление 4.3. Биологически науки
докторска програма *Генетика*

Автор: Спас Димитров Джоглов

Тема: *Изследване на генетична и средова компонента при мъже с репродуктивни смущения*

Научен ръководител: *проф. д.б.н. Евгения Нешова Иванова – ПУ „Паисий Хилендарски”*

1. Общо описание на представените материали

Със заповед № Р33-1250 от 13.03.2019 г. на Ректора на Пловдивския университет „Паисий Хилендарски” (ПУ) съм определена за член на научното жури за осигуряване на процедура за защита на дисертационен труд на тема „Изследване на генетична и средова компонента при мъже с репродуктивни смущения” за придобиване на образователната и научна степен ‘доктор’ в област на висше образование 4. Природни науки, математика и информатика, професионално направление 4.3. Биологически науки, докторска програма Генетика. Автор на дисертационния труд е Спас Димитров Джоглов – докторант в редовна форма на обучение към катедра Биология на развитието, с научен ръководител проф. д.б.н. Евгения Нешова Иванова от ПУ „Паисий Хилендарски”.

Представеният от докторант Спас Джоглов комплект материали на хартиен 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 процедурата за защита на дисертационен труд;
- автобиография в европейски формат;
- диплома за висше образование за завършена ОКС „бакалавър” по специалност „Биология и химия”, диплома за завършена ОКС ‘магистър’ по специалност „Генетика”;
- заповеди за записване в докторантура и за отчисляване;

- заповеди за провеждане на изпити от индивидуалния план и съответни протоколи за издържани изпити по специалността с успех Мн. добър (5.00) – на изпита по Мутации, Отличен (6.00) – на изпита по „Генетика на човека”, Отличен (6.00) – на изпита по „Методи за генетичен анализ”;
- протокол от катедрен съвет за предварително обсъждане на дисертационния труд и докладване на готовност за откриване на процедура за защита;
- дисертационен труд;
- автореферат;
- списък на научните публикации по темата на дисертацията;
- копия на научните публикации;
- декларация за оригиналност на получените резултати и формулираните приноси;
- справка за спазване на специфичните изисквания на Биологическия факултет за придобиване на ОНС „Доктор”.

2. Кратки биографични данни за докторанта

Спас Джоглов завършва ОКС «професионален бакалавър» в Медицинския колеж към Медицинския университет в Пловдив със специалност «Медицински лаборант» през 1999г. През 2005г. завършва обучението си в с ОКС «бакалавър» по специалност «Химия» в ПУ «П. Хилендарски», а през 2010г. придобива ОКС «бакалавър» по специалност «Биология и химия». През 2011г. придобива и ОКС «магистър» по специалност «Генетика». Със заповед на Ректора на ПУ Р33-553 от 09.02.2015г. е зачислен в редовна докторантура по Генетика към катедра «Биология на развитието», Биологически факултет на ПУ «П. Хилендарски». Отчислен е с право на защита от 01.03.2018г. Процедурата по защита на дисертационния труд на Спас Джоглов е открита в редовния срок в рамките на една година след отчисляването му.

Професионалната реализация на докторанта е свързана с работата му в медицински заведения и центрове:

- МБАЛ „Пловдив” - Кръвна банка (окр.б-ца) , Пловдив (2000-2007);
- АГ болница „СЕЛЕНА” , Пловдив (2007 – 2013);
- МЦ „ЛитоМед” Пловдив (2012-2015);
- СМДЛ „Писанец” Пловдив (2014-2015);
- МБАЛ „Ат. Дафовски”, гр. Кърджали – Молекулно - Генетична лаборатория.

Формираните в хода на професионалния му път знания и особено практически умения, свързани с използването на различни методи за цитогенетичен анализ (пренатална и постнатална цитогенетична диагностика, класически метод на

кариотипиране на човек), работата с клетъчни и тъканни култури, осъществяването на спермален анализ във връзка с консултирането на пациентски двойки с мъжки стерилитет и инфертилитет, и за подготовка за инсеминации и ин-витро процедури, са особено ценни и подпомагат разработването на настоящия дисертационен труд.

3. Актуалност на тематиката и целесъобразност на поставените цели и задачи

Актуалността и значението на изследването в научно и приложно отношение се определят от тенденцията към нарастване на броя на двойките с репродуктивни проблеми в България и отчитания демографския срив, проблеми с голяма социална значимост. Необходимостта от настоящия дисертационен труд е провокирана и от ограничаване брой комплексни проучвания върху проблема за влиянието на генетичната и средова компонента върху репродуктивното здраве на мъжете, както и от липсата на категорични заключения.

Целта на дисертационната разработка е формулирана ясно, а произтичащите от нея задачи доказват комплексния характер на изследването.

4. Познаване на проблема

В представения литературен обзор е направен обстоен анализ на голям брой публикации (цитирани са общо 275 литературни източника, 5 от които на кирилица) в доста широк времеви диапазон (1942 -2018 година), което показва, че докторантът е положил усилия да обобщи голям обем от информация, познава много добре научната литература по разработваната проблематика и може да я използва, за да обоснове необходимостта от дисертационното изследване, да очертае тенденции и да интерпретира получените свои резултати.

5. Методика на изследването

Избраният комплекс от цитологични, цитогенетични и молекулярно-генетични методи, методът на анкетиране и приложният статистически анализ са адекватни на поставената цел и позволяват успешното изпълнение на произтичащите от нея задачи.

6. Характеристика и оценка на дисертационния труд

Представеният за рецензия дисертационен труд е в обем от 174 страници, включително и списък на публикациите на докторанта и участията в научни форуми (2 стр.). В основния текст на дисертацията са включени 37 таблици (9 от тях с графична визуализация на данните), 24 фигури (9 от които – микрофотографии с високо качество). Съдържанието на дисертационния труд е структурирано по следния начин:

- Въведение (2 стр.), в което накратко е разгледан проблема за мъжкото репродуктивно здраве и необходимостта от прилагането на комплексни подходи за оценка;
- Литературен обзор (44 стр.), обобщаващ голям брой литературни източници и диференциращ анализираната информация по отношение на общите тенденции, влиянието на факторите на средата и начина на живот върху мъжката фертилност, влиянието на биологични и инфекциозни фактори, геномните мутации, микроделециите в Y гонозомата и ДНК уврежданията;
- Цел и задачи (1 стр.) - ясно формулирани, носещи необходимата конкретика;
- Материал и методи (37 стр.) – в тази глава е описана изследваната извадка от 1540 мъже, като възрастово разпределение, местожителство (Табл. 1) и причини за провеждане на спермален анализ (Табл. 2), както и изолирания материал, използван за конкретния тип анализ. Детайлно са описани приложените методи, чрез които е събрана информация за начина на живот и фактори на средата (анкетирането), конвенционалния спермален анализ, чрез който са анализирани макроскопски и микроскопски параметри на спермалната течност, цитогенетичния анализ за установяване на кариотипни отклонения, молекулярно-генетичния анализ за установяване на микроделеции в Y хромозомата, акридин-оранж флуоресцентния тест за определяне на ДНК интегритета в сперматозоидните ядра, кометния метод за установяване на ДНК повреди, както и статистическия анализ;
- Резултати и обсъждане (56 стр.) – в тази глава са описани подробно резултатите от проведеното анкетно проучване, които определят средовите фактори; резултатите от спермалния анализ; от цитогенетичния и молекулярно-генетичните анализи. Установени са хромозомни и геномни аномалии, които провокират инфертилитет. Описана е балансирана транслокация между 13-та и 21-ва хромозома, която до момента не е съобщавана. Констатирана е сравнително висока честота на микроделеции в специфични региони на Y хромозомата, които кореспондират с влошените спермални показатели при изследваната извадка от български мъже. За над 30% от тях са установени ДНК увреждания чрез акридин-оранж флуоресцентния тест и кометния анализ. Данните от цитогенетичния и молекулярно-генетичните анализи се допълват и биха могли да бъдат използвани

при диагностиране на мъжкия инфертилитет, което очертава сериозната значимост на изследването в научно-приложен аспект.

- **Заклучения и изводи (2 стр.)** – обобщават основните резултати, базиращи се на достатъчно голяма извадка от индивиди, изследвани чрез комплекс от методи. Докторантът показва отлични способности за анализ и обобщаване на получените резултати, както и възможности за извеждане на логично следващи от тях изводи. Формулирани са 11 извода, които съответстват на поставените задачи и отразяват получените резултати.
- **Приноси (2 стр.);**
- **Използвана литература (22 стр.).**

7. Приноси и значимост на разработката за науката и практиката

Получените в хода на проведеното изследване резултати и установените зависимости, както и направената интерпретация очертават приноси с научен, научно-приложен, методически и потвърдителен характер. Най-същественият принос на изследването е използването на комплексен подход за проучване на генетичната и средова компонента на мъжкото репродуктивно здраве, установяването на зависимости между фактори на средата, спермални показатели и нива на ДНК увреждания в сперматозоидите. Оригинален принос е и установената корелация между структурните нарушения в SRY региона на Y хромозомата и някои отклонения, отчетени чрез конвенционалния спермален анализ като азооспермия и тежка олигоастенотератозооспермия. Оригинален принос е и тревожната констатация, че между 32% и 35% от изследваните мъже имат ДНК увреждания в над 30% от сперматозоидите си. Установеното по отношение на негативното действие на някои фактори на средата върху мъжкото репродуктивно здраве има научно-приложна тежест, тъй като може да бъде използвано за превенция и профилактика, а чрез единия от изследваните кометни показатели, с висока статистическа достоверност е възможно да се предскажат стойностите на другите два – обстоятелство, което би могло успешно да се прилага за прогностична дейност. Ценен методически принос е и описаната комбинация от конвенционални, цитогенетични, молекулярно-генетични и биостатистически подходи за детайлни анализи на генетична и средова компонента при мъже с репродуктивни смущения.

8. Преценка на публикациите по дисертационния труд

Докторантът е приложил три публикации, свързани с дисертационния труд – една излязла от печат и две под печат. Една от публикациите, които са под печат е в списание с IF, а другата – в базата данни Scopus. И в трите публикации Спас Джоглов е първи автор.

Приятно впечатление прави голямата активност на докторанта по отношение участието му в научни форуми. По време на обучението си в докторската програма той има 4 участия в международни конгреси и конференции, и 3 – в национални.

В периода 2015-2016 г. докторантът е участвал в проект, финансиран от ФНИ на ПУ, като член на научния колектив.

Представената информация за публикационната и научно-изследователска активност на докторанта показва, че Спас Джоглов покрива напълно изискванията на Биологическия факултет за придобиване на ОНС „доктор”.

9. Лично участие на докторанта

Във всички посочени публикации, отразяващи резултати от дисертационната разработка, както и в шест от материалите, представени на конференции, докторантът е първи автор, което доказва личното му участие в дисертационното изследване.

10. Автореферат

Представеният автореферат е структуриран според изискванията и отразява основните резултати, описани в дисертацията.

11. Критични забележки и препоръки

Голяма част от направените от мен забележки и препоръки на разширения катедрен съвет, на който се проведе предварителната защита на дисертационния труд, са взети под внимание.

Имам някои забележки, които засягат по-прецизното онагледяване на резултатите. Показаните микрофотографии са много демонстративни, но:

- във фиг. 20 е добре за по-голяма яснота да се означат със стрелки отделните типове аномалии в сперматозоидната морфология;

- във фиг. 22 е необходимо да се посочи със стрелка констатираната транслокация (така както това е направено за хроматидните аберации);

- във фиг. 24 е добре да се означат отделните класове комети.

В текста са останали някои повторения на абзаци (например на стр. 103/104).

В частта „Резултати и обсъждане” има цитирана информация с конкретни данни, но не е посочен източника на тази информация (не са цитирани авторите).

При формулирането на извод №4 е използван терминът „изохроматидни”, който е неточен. По-коректно е да се използва терминът „хроматидни”, защото в частта „Резултати и обсъждане” са описани и онагледени хроматидни структурни изменения (фиг. 22)

Извод №9 звучи много описателно.

По-точно и научно издържано би било вместо за „проблеми” в SRY региона на Y-хромозомата при формулирането на принос №3 (от научните приноси с оригинален характер) да се говори за „микроаберации” или „микроделеции”, каквито всъщност са констатирани.

В главата „Литературен обзор” има допуснати неточности и липси по отношение на авторите, които се цитират, например: Bisson – стр. 10 (липсва година на изследването); Kamal et al., 1999a – стр. 10 (липсва, обаче Kamal et al., 1999б, в литературния списък е представено само едно изследване на този авторски колектив) и др.

В представения литературен списък също има допуснати неточности и липси, например в №185 – липсва списание, страници; няма представени библиографски данни за цитираните в литературния обзор проучвания на: Shalgi et al., 1992; World Health Organization, 1992; Zaneveld, 1977; Schirren et al., 1971; De Souza et al., 2010; Moreira et al. 2012; Coneet al., 1986; и др.

Имам и няколко въпроса към докторанта:

1.Каква е разликата между посочените „процент” и „валиден процент” (табл.4, 5, 6, и т.н.).

2.Имате ли данни относно това как се съпоставя установената от вас честота на синдрома на Клайнфелтър с установената за българската популация?

3.Ако трябва да диагностицирате причината за констатиран репродуктивен проблем при пациент, кой/кои от използваните в тази дисертационна работа методи бихте използвали и в каква последователност?

12. Лични впечатления

Преди да започне обучението си в докторската програма по Генетика, Спас Джогулов е завършил ОКС „магистър” по Генетика. В хода на обучението в магистърската програма той

се отличаваше с усърдие и компетентност, и много добри практически умения за лабораторна работа, които са подпомогнали и разработването на настоящата дисертация. Като член на изпитните комисии по дисциплините от индивидуалния план на докторанта, споделям и личното си задоволство от отличното му представяне.

13. Препоръки за бъдещо използване на дисертационните приноси и резултати

Препоръчвам данните от настоящото проучване да бъдат използвани като база за следващи изследвания, тъй като чрез прилагането на комплекс от методи са установени интересни зависимости между фактори на средата – спермални показатели – и ДНК увреждания в сперматозоидите. Описаните в дисертационния труд резултати носят сериозен потенциал на приложимост при анализиране, прогнозиране и превенция на мъжкото репродуктивно здраве.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Дисертационният труд **съдържа научни и научно-приложни резултати, които представляват оригинален принос в науката и отговарят на** изискванията на Закона за развитие на академичния състав в Република България (ЗРАСРБ), Правилника за прилагане на ЗРАСРБ, Правилника за РАС на ПУ „Паисий Хилендарски“. Представените материали и дисертационни резултати **напълно** съответстват и на специфичните изисквания на Биологическия факултет, приети във връзка с Правилника на ПУ за приложение на ЗРАСРБ.

Дисертационният труд показва, че докторантът Спас Димитров Джоглов **притежава** задълбочени теоретични знания и професионални умения по научна специалност Генетика като **демонстрира** качества и умения за самостоятелно провеждане на научно изследване.

Поради гореизложеното, убедено давам своята **положителна оценка** за проведеното изследване, представено от рецензираните по-горе дисертационен труд, автореферат, постигнати резултати и приноси, и **предлагам на почитаемото научно жури да присъди образователната и научна степен ‘доктор’** на Спас Димитров Джоглов в област на висше образование: 4. Природни науки, математика и информатика, професионално направление 4.3. Биологически науки, докторска програма „Генетика“.

22. 04. 2019 г.

Рецензент:

(проф. д-р Теодора Стайкова)