

СТАНОВИЩЕ

от доц. д-р Марияна Христова Гозманова

ПУ „П. Хилендарски“, Пловдив

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

научна специалност: Молекулярна биология

докторска програма: Молекулярна биология

Автор: Мария Николова Николова- Милова

Тема: „Оценка на ендометриалната възприемчивост чрез профилиране на генетични и хормонални маркери“

Научни ръководители:

проф. д-р Галина Тенева Яхубян Катедра „Молекулярна биология“, Пловдивски университет „Паисий Хилендарски“

гл.ас .д-р Младен Маринов Найденов Катедра „Анатомия и физиология на човека“, Пловдивския университет „Паисий Хилендарски“

1. Общо представяне на процедурата и докторанта

Представеният от Мария Николова Николова-Милова 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:

1. молба по образец до Ректора на ПУ за разкриване на процедура за защита на дисертационен труд;
2. автобиография по европейски формат;
3. протокол от предварително обсъждане на дисертационния труд на КС;
4. становище от научния ръководител относно готовността на кандидата за защита;
5. заповед за избор на научно жури;
4. автореферат;
6. дисертационен труд;
7. декларация за оригиналност и достоверност на приложените документи;
8. справка за спазване на специфичните изисквания на Биологически факултет;
9. списък на публикациите;

10. копия на публикациите по темата на дисертационния труд;

Мария Николова Николова-Милова придобива образователна и квалификационна степен лекар през 1996г., а през 2005 г. специалност акушерство и гинекология и репродуктивна медицина. Преминала е редица курсове и обучения за следдипломна квалификация по нови репродуктивни технологии, гинекологична оперативна техника, лапароскопия, ултразвукова диагностика и др. От март 2018г. е зачислена в редовна докторантура в Катедрата по Молекулярна биология към Биологически факултет на ПУ „Паисий Хилендарски”.

Като докторантка тя участва в проект „Изследване на участието на микро РНК и техните изоформи в установяване и поддържане на ендометриума“, финансиран от ФНИ и взема участие в шест научни форума.

Представеният от Мария Николова комплект материали на хартиен носител по дисертацията е в съответствие с изискванията на Закона за развитие на академичния състав в РБ и Правилника за неговото приложение.

2. Актуалност на тематиката

Тематиката на дисертационния труд е изключително значима в областта на репродуктивната биология. Фокусът е миРНК медираната регулация на гени, асоцирани с рецептивността на ендометриума, който е от ключово значение за успешното имплантиране на ембриона и поддържането на бременността. миРНК молекулите са некодиращи малки РНКи, контролиращи генната експресия на пост-транскрипционно ниво. Те регулират широк обхват от процеси, включително пролиферация, диференциация и апоптоза. Търсенето на потенциални биомаркери за оценка на рецептивността на ендометриума стимулира проучването на взаимодействия между миРНК и техните прицелни гени в здравия и патологичен ендометриум с помощта на високопроизводителното секвениране и количествен PCR в последните години, което прави настоящия дисертационен труд особено актуален.

3. Познаване на проблема

Литературният обзор включва анализ на 333 литературни източника, всички със заглавия на латиница, като основният акцент е върху публикации, излезли през последните 5 години. Информацията е добре описана и систематизирана, графично онагледена с 13 фигури и 3 схеми и показва, че докторантът е добре запознат с проблематиката, касаеща неговия дисертационен труд.

4. Методика на изследването

Използвани са набор от клинични (ултразвукова фоликуметрия, хистологичен и биохимичен анализ), молекулярно-биологични и биоинформатични методи за постигане на поста-

вената цел и задачи. Събирането на проби е одобрено от Етичната комисия за работа с животни (вкл. хора) на Биологическия факултет на ПУ и е документирано с информирано съгласие на пациентите. За правилно датиране на рецептивната база на ендометриума е прилаган човешки хорионгонадотропен хормон (hCG). Докторантката използва съвременни молекулярно-биологични методи като новогенерационното секвениране на малки РНК, секвениране на тоталната РНК и валидиране на данните от тези анализи чрез PCR в реално време, за да допринесе за по-детайлното разбиране на молекулните процеси, които регулират ендометриалната рецептивност.

5. Характеристика и оценка на дисертационния труд и приносите

Дисертационният труд е структуриран според изискванията в следните основни части: Въведение (2 стр.), Литературен обзор (51 стр.), Цел и задачи (2 стр.), Материал и методи (10 стр.), Резултати (22 стр.), Обсъждане (8 стр.), Изводи (2 стр.), Литература (19 стр.). В първата част от литературния обзор се прави подробен анализ на структурата на ендометриума и неговата хормонална регулация по време на цикличните му промени, докато във втората част се описват докладваните до момента данни за откриване на миРНК в определени популации от клетки в ендометриума и тяхното потенциално участие в регулацията на ендометриалната възприемчивост.

Дисертационният труд има за цел да идентифицира диференциално експресирани миРНК, техни изоформи и белтък-кодиращи гени в ендометриални проби в четири времеви точки на хорионгонадотропно стартиран ендометриум.

Резултатите са онагледени с 10 фигури, 7 таблици и 1 схема. В резултат от проведените анализи, докторантката открива 15 микроРНК и 71 изоформи, които показват динамика в експресионните си профили по време на изследваните фази от ендометриалния цикъл. Докладвано е намаление в експресията на членовете на семействата на miR-125a, miR-92a/b и miR99-b, докато при miR-30d, miR-375, miR-449c и miR-99a е установена тенденция към повишаване нивата на експресия при прехода от пререцептивна към рецептивна фаза. Предвид факта, че миРНК са негативни регулатори на генната експресия са потърсени техни таргетни гени, показали променена експресия в хода на ендометриалния цикъл. Открити са общи и специфични гени за всяка фаза от цикъла. Извършен е онтогенетичен анализ на тези гени с цел асоцирането им с определени функции в ендометриалния цикъл.

Едно от ключовите постижения на тази работа е предложената потенциална регулаторна мрежа, включваща микро РНК: let7г-5p, miR-345, семействата isomiR на miR-10a/b, miR-92a и miR-449c, и гените: MYCN и TWIST1, в рецептивността на ендометриума. Предвижда се бъдещо по-детайлно проучване на miR-449c за оценка на възможността за нейното използване като потенциален биомаркер за ендометриална рецептивност.

На базата на проведените експерименти и получени резултати, логично и последователно е развита дискусиата. Формулирани са 11 извода, които съответстват на поставените цели и получени резултати.

Критични забележки и препоръки:

Докторантката е представила приложение към дисертационния труд, в което са описани \log_2 (FC) и p-value на диференциално експресираниите миРНК, но липсва пълен списък с информация за нивата на експресия на белтък-кодиращите гени. Тази информация е наложително да присъства като приложение към дисертационния труд, предвид факта, че докторантката коментира функционална роля на конкретни белтък-кодиращи гени, а именно: потенциалната роля на FGF7 в децидуализацията на ендометриалните клетки, CNTN1 в опознаването на ембриона и TWIST1 като транскрипционен фактор който медира промените в ендометриума.

6. Преценка на публикациите и личния принос на докторанта

Мария Николова представя две публикации, свързани с дисертационния труд в реферирани издания с импакт фактор, в една от които тя е водещ автор, както и една публикация извън Scopus и Web of Science, което напълно съответства на ЗРАСРБ, Правилника за прилагане на ЗРАСРБ и съответния Правилник на ПУ „Паисий Хилендарски“, както и на специфичните изисквания на Биологическия факултет.

Представените публикации са добре приети от научната общност, публикацията „Coupling miR/isomiR and mRNA Expression Signatures Unveils New Molecular Layers of Endometrial Receptivity“ има 10 цитата, а публикацията „The Dynamics of miR-449a/c Expression during Uterine Cycles Are Associated with Endometrial Development“ е цитирана три пъти.

7. Автореферат

Авторефератът съответства на представените в дисертацията цели, задачи, резултати, дискусия и изводи и покрива изискванията на ЗРАСРБ, Правилника за прилагане на ЗРАСРБ и съответния Правилник на ПУ „Паисий Хилендарски“, както и на специфичните изисквания на Биологическия факултет.

8. Препоръки за бъдещо използване на дисертационните приноси и резултати

Получените резултати в дисертацията имат потенциал да бъдат доразработени в бъдеще с оглед идентифициране на биомаркери за ендометриалната рецептивност, което може да

допринесе за решаването на практически проблеми, като репродуктивни затруднения и неуспешни имплантации. В допълнение към диагностичното приложение този труд има фундаментален принос в разбирането на ролята на микроРНК и техните изоформи в контрола на цикличните месечни промени на здравия ендометриум.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Дисертационният труд съдържа научни и научно-приложни резултати представляващи оригинален и значим принос в науката и отговарят на всички изисквания на Закона за развитие на академичния състав в Република България (ЗРАСРБ), правилника за прилагане на ЗРАСРБ и съответния правилник на ПУ „Паисий Хилендарски“. Представените материали и резултати в дисертацията напълно съответстват на специфичните изисквания на Биологическия факултет за приложение на ЗРАСРБ.

Дисертационният труд показва, че докторантката Мария Николова Николова- Милова притежава теоретични знания и професионални умения по научна специалност „Молекулярна биология“, и демонстрира качества и умения за самостоятелно провеждане на научно изследване.

Въз основа на гореизложеното, като член на научното жури убедено давам своята **положителна оценка** за проведеното изследване, представено от дисертационен труд, автореферат, постигнати резултати и приноси и *предлагам на почитаемото научно жури да присъди образователната и научна степен „доктор“* на Мария Николова в област на висше образование: 4. Природни науки, математика и информатика, научна специалност: Молекулярна биология.

10.05.2024 год.

гр. Пловдив

Изготвил становището:

/доц. д-р Марияна Гозманова/