

## СТАНОВИЩЕ

от: доктор, Елена Димитрова Апостолова-Кузова - доцент

на дисертационен труд за присъждане на образователната и научна степен „доктор“

по: област на висше образование: **4. Природни науки, математика и информатика**

професионално направление: **4.3 Биологически науки**

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 - Пловдивски Университет “Паисий Хилендарски”;

гл. ас. д-р Младен Маринов Найденов - Пловдивски Университет “Паисий Хилендарски”

### 1. Общо представяне на процедурата и докторанта

Със заповед № РД-21-712 от 01.04.2024 г. на Ректора на Пловдивски Университет „Паисий Хилендарски“ съм определена за член на научното жури за осигуряване на процедура за защита на дисертационен труд на тема „Оценка на ендометриалната възприемчивост чрез профилиране на генетични и хормонални маркери“ за придобиване на образователната и научна степен „доктор“ в област на висшето образование 4. Природни науки, математика и информатика, професионално направление 4.3. Биологически науки, докторска програма „Молекулярна биология“. Автор на дисертационния труд е Мария Николова Николова-Милова – докторант в редовна форма на обучение (отчислена с право на защита) с научни ръководители: проф. д-р Галина Тенева Яхубян и гл. ас. д-р Младен Маринов Найденов, (ПУ “Паисий Хилендарски”, Биологически факултет, Катедра “Молекулярна биология”). Представеният от Мария Николова Николова-Милова комплект материали е в съответствие с Чл.36 (1) от Правилника за развитие на академичния състав на ПУ, включващ следните документи:

- молба до Ректора на ПУ “Паисий Хилендарски” за разкриване на процедура за защита на дисертационен труд;
- автобиография в европейски формат;

- протоколи от катедрени съвети, свързани с докладване на готовност за откриване на процедурата и с предварително обсъждане на дисертационния труд;
- дисертационен труд;
- автореферат;
- списък на научните публикации по темата на дисертацията;
- копия на научните публикации;
- декларация за оригиналност и достоверност на приложените документи;
- справка за спазване на специфичните изисквания на Биологически факултет. Докторантката е приложила 3 броя научни публикации свързани с дисертационния труд, 2 от които с кватил 2 и общ импакт фактор 7,4.

## **2. Актуалност на тематиката**

Милиони деца са родени благодарение на напредъка в асистираната репродуктивна технология и въпреки, че процентите на успех са стабилизирани, все още има скрити ендометриални фактори, чиято дисфункция може да попречи на бременността. Разкриването на техните генетични детерминанти би довело до разширяване на знанията за ендометриалните молекулярни механизми, които определят успешната имплантация или нейния неуспех. Напредъкът в технологиите за секвениране от следващо поколение дава нов тласък за получаване на по-подробно разбиране на молекулярните механизми на ендометриалната възприемчивост, както и по-детайлно разбиране на връзката между ендометриума и ембриона по време на имплантационния процес. Настоящите познания за ролята на микроРНК, като ключови регулатори на генната експресия откриват напълно ново поле за изследване и нови потенциални клинични приложения. Координираната генна експресия в рецептивния ендометриум е от съществено значение за успешното имплантиране. Все още няма изследвания върху експресията на микроРНК и техните изоформи през основните фази на ендометриалния цикъл и това прави тематиката на дисертационният труд изключително актуална.

## **3. Познаване на проблема**

Докторантката познава проблема, обект на дисертационния труд, в детайли. Това личи от добре подробната и аналитично оценена литературна справка. Добрата теоретична подготовка допринася за успешното разрешаване на поставената цел, а именно разкриване на потенциалната роля на микроРНК и техните изоформи в установяването на ендометриалната рецептивност при здрави и фертилни жени.

#### **4. Методика на изследването**

Изследванията включват съвременни подходи и анализи, което прави работата важна основа за по-нататъшни изследвания, както на самата докторантка, така и на други учени. Използвани са, както класически, така и по-съвременни методи за изследване ролята на микроРНК молекулите и техните изоформи в установяването на ендометриалната рецептивност при здрави и фертилни жени. Докторантката борави отлично с терминологията, използва съвременни медицински, молекулярно-генетични и биоинформатични инструменти и анализи, които прилага с вещина, което показва нейната добра методическа и практическа подготовка.

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

Дисертационният труд съдържа 133 стр., от които 20 стр. с литература, включващи 333 литературни източника (всички на латиница), 9 таблици, 5 схеми и 24 фигури. Структурата на дисертационния труд, според предоставеното "Съдържание" е следната: Въведение - 2 стр., Литературен обзор - 52 стр., Цел и задачи - 2 стр., Материали и методи - 11 стр., Резултати – 23 стр.; Дискусия - 9 стр., Изводи - 2 стр., Заключение – 1 стр. Основната тежест на дисертационния труд са главите „Резултати“ и “Дискусия“. В тях се представят резултатите от приложените съвременни методи за подобен род проучване, подкрепени с адекватна биоинформатична и статистическа обработка и визуализация. В предоставения ми за рецензиране дисертационния труд е представено изследване, целящо проучване ролята на микроРНК молекулите и техните изоформи в установяването на ендометриалната рецептивност при здрави и фертилни жени чрез сравнителен анализ на динамиката на експресионните им профили в хода на цикъла и интегрирането им с транскриптомни данни, хистологични и биохимични показатели. Основен акцент в работата на докторантката е сложността и динамиката на ендометриалните изоформи на микроРНК, които биха могли да действат сами или съвместно с микроРНК в контрола на функционално свързани гени, които отговарят за установяване на ендометриалната рецептивност. Крайната цел е при по-задълбочено и обширно познаване на микроРНК във връзка с ендометриалната възприемчивост, установените микроРНК и изоформи да бъдат ползвани като биомаркери за ендометриална рецептивност. Работата завършва с изводи (11 на брой) и заключение, където се обобщават установените тенденции от проучването, които изцяло отговарят на поставената цел и задачи. Естеството и достоверността на материала, върху който се изграждат изводите, не будят съмнение.

#### **Критични забележки и препоръки:**

Отбелязвам следните моменти от дисертацията изискващи прецизиране:

- Схема 4 липсва в дисертационния труд;
- Твърде много текст под Фигур 7, Фигура 10 и Фигура 12.

- На Схема 2 липсва информация какво е нанесено като измерване по абциса и по ордината;
- На стр. 68 има схема без номерация и описание какво представя;
- На стр. 49: "...в моделни бозайници (при *C. elegans* и мишки)";
- Повторен абзац на стр. 5 и стр. 57;
- Полимеразна верижна реакция се съкращава и като ПВР, и като РСР. Би било добре да се унифицира употребата на термина.

**Към докторанта имам следните въпроси:**

Познавате ли и други БД за микроРНКи, освен цитираната от вас miRBase?

Обяснете малко по-подробно как приведохте чистите прочити от секвенирането на РНК в съответствие с GRCh38/hg38 човешки референтен геном от HISAT2 и какво означава чисти прочити.

При какви параметри на инструмента featureCounts бяха създадени матриците за преброяване?

**6. Преценка на публикациите и личния принос на докторанта**

Публикациите могат да бъдат класифицирани по вид:

**Участия в конференции** – Шест броя, от които един доклад и пет постерни участия:

Nikolova, M., Milova, N., Milov, A., Naydenov, M., Yahubyan, G, Age-dependent dynamics of ovarian hormones in hCG-primed endometrial cycle of healthy women; Third National Young Conference on Biology, 01 November 2022, Plovdiv; Nikolova, M., Naydenov, M., Apostolov, A., Glogovitis, I., Saare, M., Salumets, A; Baev, V.; and Yahubyan, G. Time-course analysis of endometrial miR/isomiR expression dynamics during hCG-primed menstrual-cycle phase transitions; ESHRE Virtual 37<sup>th</sup> Annual Meeting; 27-30 June 2021; Nikolova, M., Tashkova, D., Milov, A., Naydenov, M., Dimitrakova E., Yahubyan, G., Histological evaluation of human endometrium at different phases of hCG-primed menstrual cycle; BalkanBio conference, 15-16 April 2021; Nikolova, M, Yahubyan, G, Apostolov. A., Tashkova, D., Milova. N., Naydenov, M. Correlation of histological and hormonal data with the expression profiles of endometrial specific microRNAs in proliferative, early-secretory and mid-secretory phase in one cycle of a healthy fertile woman; Национален конгрес по стерилитет, 05-08 март 2020, Боровец; Nikolova, M., Naydenov, M., Yahubyan G. Expression profile of miR31 in proliferative, early-secretory, mid-secretory and late-secretory phase in one cycle of a healthy fertile woman; XX Национален конгрес по стерилитет, 07-10 март 2019, Боровец; Nikolova, M., Naydenov, M., Yahubyan G. Expression profile of the microRNAs-miR30b, miR30d, miR335 and miR548 in proliferative, early-secretory and mid-secretory phases of one menstrual cycle of a healthy fertile woman Юбилейната научна сесия „Дни на науката 2019"; 31 октомври – 1 ноември 2019 г.; Съюз на учените в България - Пловдив.

**Публикации** – 3 броя свързани с дисертационния труд, от които 2 броя с общ импакт фактор 7,4 и квартили 2.

**Проекти** - 1 брой (член на екип към проект, финансиран от Фонд Научни Изследвания: “Изследване на участието на микроРНК и техните изоформи в установяването и поддържането на ендометриума” КП-06-ПН31/23; 2018-2024).

Дисертационният труд и извършената работата по него са изцяло лично дело на докторантката. Няма данни за недобросъвестно използване на чужди непубликувани или публикувани резултати, наблюдения, идеи и др.

## **7. Автореферат**

Той обхваща 31 страници и в синтезиран вид отразява уводните 3 раздела, малко по- подробно - четвърти и пети (Резултати и Обсъждане). Установих пълна еднаквост на изводите в дисертацията и автореферата. Написан е добре, стегнато, ясно и отговаря на изискванията на съответните правилници, като отразява основните резултати, постигнати в дисертацията.

## **8. Препоръки за бъдещо използване на дисертационните приноси и резултати**

Представените в дисертацията приноси са оригинални и произтичат пряко от изпълнението на целта и задачите на изследването. Те биха могли да помогнат за бъдещи изследвания на сложността и динамиката на ендометриалните изоформи на микроРНК, които биха могли да участват в контрола на функционално свързани гени, отговорни за установяване на ендометриалната рецептивност. Проучването би могло да бъде продължено в посока за установяване на семейството на miR-449c, като биомаркер за ендометриална рецептивност. По-нататъшни изследвания на експресионните профили на ендометриалните микроРНК и изоформи, както и на техните прицелни гени, може да даде по-задълбочена картина на ендометриалните нарушения при жени с репродуктивни проблеми и повтарящи се имплантационни неудачи.

## **ЗАКЛЮЧЕНИЕ**

Дисертационният труд съдържа научни резултати, които представляват оригинален 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 дисертационни резултати напълно съответстват на специфичните изисквания на Биологически факултет към ПУ, приети във връзка с Правилника на ПУ за приложение на ЗРАСРБ, което ми дава основание да го оценя **ПОЛОЖИТЕЛНО**.

Позволявам си да предложа на почитаемото Научно жури също да гласува положително и да присъди на Мария Николова Николова-Милова образователната и научна степен “ДОКТОР”

по научната специалност “МОЛЕКУЛЯРНА БИОЛОГИЯ”

30.04.2024 г.

гр. Пловдив

**Изготвил становището:**

*(доц. д-р Елена Апостолова-Кузова)*