

РЕЦЕНЗИЯ

от професор д-р **Филип Ц. Куманов**, дм, дмн

на дисертационния труд

на д-р **Пламен Тодоров Тодоров**

„Криобиологични изследвания върху човешки овариални клетки и
фрагменти”

за присъждане на научната степен „доктор на науките”

по научната специалност „Клетъчна биология”

През последното столетие драстично намаля смъртността, но също и възпроизводството на населението. Опазването на фертилитета се превърна в една от първостепенните задачи на медицината. При определени пациентки замразяването на овоцити и ембриони е невъзможно и тъкмо при тях единственото решение за фертилитет е криоконсервиране на овариална тъкан. Методът е сравнително нов, ефективността му все още е ниска. До 2017 година в света са родени около 100 деца след трансплантация на предварително замразени овариални фрагменти. Още не е разработена технология за криоконсервиране на цял яйчник.

В светлината на тези проблеми се откроява актуалността на обсъждания труд „Криобиологични изследвания върху човешки овариални клетки и фрагменти” от ст. н. сътр. Пламен Тодоров.

Целта, която авторът си е поставил се свежда до оптимизиране въз основа на собствени проучвания на вече установена и разработена технология за криоконсервиране на яйчникова тъкан. Така формулирана целта изглежда твърде скромна според получените и представени многопосочни изследвания, извършени в продължение на цели 20 години – от 1996 до 2016 година.

Литературният обзор е прекалено обстоен. В него авторът е засегнал и подробности, свързани с молекулярни и хистологични процеси, които нямат отношение към поставените в дисертацията въпроси, като напр. структура и функции на инхибините, активините и фолистатина. Въобще дисертационният труд изобилства с излишни повторения. След като в обзора е изложена подробно стероидосинтезата, авторът с почти същите думи я описва и в раздела „Резултати” (стр. 68, 73), което не допринася за подобряване на изложението и осветляване на засегнатите въпроси.

За епидемиологията на раковите заболявания Тодоров използва чуждестранна информация (стр. 36-37), а би било редно да посочи актуални данни и за нашата страна.

На таблица 2 (стр. 38) нагледно и синтезирано са показани предимствата и недостатъците при криоконсервиране на различен биологичен материал – овоцити, ембриони и яйчникова тъкан.

Старши научен сътрудник Тодоров е създателят на единствената у нас криобанка за човешка овариална тъкан (стр. 46) – завоевание, което обаче не остава капсулирано само за себе си, а създава предпоставки за следващите стъпки към усъвършенстване на технологията за криоконсервиране на яйчникови клетки и тъкани.

В раздела „Материали и методи” много добро впечатление прави изчерпателното представяне на показателите на използвания от автора радиоимунологичен анализ, включително коефициента на вътрешна грешка и на грешка между анализите (стр. 57-58). Не може да не бъде оценено и описанието на трансплантирането на човешка яйчникова тъкан върху имунодефицитни мишки (ксенографска трансплантация), стр. 62-63. Не става ясно дали това е собствен метод на експериментатора. В противен случай Тодоров би следвало да цитира източника на информация. Също авторът не уточнява защо е приложил ФСХ, комбинацията ФСХ/ЛХ и тестостерон в посочените дози (стр. 57). Ако е използван чужд опит или

утвърден вече метод, оригиналното описание би трябвало да бъде споменато.

Старши научен сътрудник Тодоров е получил твърде интересни резултати.

В среда, към която е добавен тестостерон, той забелязва промени в морфологията на клетъчните ядра (стр. 69). Досега в достъпната литература такъв феномен не е регистриран. Поради изключителния характер на наблюдаваното явление, би следвало то да бъдат подробно описано и съпроводено от документация със снимки, проследяващи измененията в динамика, което авторът, за съжаление, не е направил.

Крайно интересни са резултатите, представени на таблица 3 и таблица 4 (стр. 77) за ускоряване на общата подвижност на сперматозоидите след култивирането им с човешки овариални клетки. Наблюдението е перспективно с оглед оптимизиране на оплодителната способност и фертилитета на бездетните.

Специално следва да бъде отбелязано изследването за плурипотентност на овариални клетки от жени на различна възраст (стр. 85-86). Методичната постановка и използваните средства са безупречни. Установените данни представляват съществен принос в изострената напоследък дискусия за времето на формиране и периода на изчерпване на яйчниковия резерв в хода на онтогенезата.

Приносите в рецензирания труд са с приложен характер, ориентирани са към пряката клинична практика на специалистите по репродуктивна медицина в борбата им срещу инфертилитета при жените. Такива са резултатите, които доказват:

- предимството на етиленгликола в криоконсервирането,
- значението на медулата при замразяване на овариални фрагменти,
- предимствата и недостатъците на програмното замразяване и

витрификацията според подложения на криоконсервиране материал – яйчникови клетки или фрагменти от женските гонади,

- благоприятното действие на преинкубацията на 5⁰ С.

Два от изтъкнатите от автора приноси имат само локален характер – осъществени са за пръв път у нас. В светлината на съвременните изисквания към научните трудове трябва да се прекрати със старата практика за представяне на постижения само в национален мащаб и да се приемат за истински принос единствено пионерни в международен аспект наблюдения и резултати.

Някои пропуски, неточности и неверни твърдения следва да бъдат специално посочени.

В схемата за стероидосинтезата на стр. 20 са допуснати грешки.

На стр. 28 подглава 1.2.2. би трябвало да бъде озаглавена „Средства”, а не „Подходи за защита на биологичните обекти при замразяване”.

Думите *кит, китове* без кавички или курсив изглеждат нелепо.

Не е ясно защо синдромът на Turner е посочен като заболяване, при което е показано замразяване на овариална тъкан (стр. 46). Известно е, че при синдрома има само фиброзно-ивичести остатъци, а не дееспособна яйчникова тъкан. Ако авторът има предвид някои от вариантите на синдрома, би трябвало да посочи своите съображения.

Внимание трябва да бъде обърнато и на проблема с гонадотропните препарати. Използваните в проучванията на Тодоров Gonal F и Puregon съдържат рекомбинантен ФСХ, получен по сходна технология. ФСХ е гликопротеин, сроден с другите три такива хормона: ЛХ, тиреостимулиращия хормон и човешкия хорионгонадотропин. Всеки един от тях е изграден от две полипептидни вериги (субединици). Тези четири хормона, включително и ФСХ, притежават еднаква α -верига (субединица). Те обаче се различава по β -веригата (субединицата), която определя специфичното им биологично действие. Ако Gonal F, наречен още

фолитропин α , (това название вероятно подвежда и е причина за неточността в текста на дисертацията) съдържа само α -веригата (субединицата) на ФСХ, както пише Годоров на стр. 73, хормонният препарат не би могъл да действа. Gonal F и Puregon са препарати, синтезирани по една и съща рекомбинантна технология. Те са димери от α - и β -субединиците на ФСХ и се отличават помежду си по гликозилирането и по процедурите на пурификация. Поради нееднаквата въглехидратна съставка фолитропин α (Gonal F) е по-киселинен в сравнение с фолитропин β (Puregon) и това определя различие в полуживота им и в тяхната биологичната активност.

В случая по-важното е, че авторът не се опитва да разтълкува наблюдаваната от него диференциация в действието на двата препарата (Gonal F и Puregon) по отношение на продукцията на естрадиол (стр. 73-74), а такова обяснение е наложително, още повече в светлината на противоположни резултати, получени от други автори, напр. Orvieto R et al, Fertil & Steril, 91, 2009, 4, Suppl., 1522-1525. Това изследване за съжаление не фигурира в книгописа към дисертацията.

В обсъждания труд са използвани 293 източника на кирилица и латиница. От тях по-малко от половината (126) са публикувани след 2010 година.

Във връзка с дисертацията си авторът представя 31 труда, единадесет от които са поместени в списания с импакт фактор, а на 15 той е първи автор. Отделно са посочени още 17 доклада на научни форуми.

За актуалността на третираните в дисертацията проблеми и интереса към получените резултати убедително свидетелстват 189 цитирания в нашия и международния научен печат.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ: въз основа на изтъкнатите достойнства, независимо от посочените слабости, давам **ПОЛОЖИТЕЛНА** оценка на представения

за рецензиране дисертационен труд „Криобиологични изследвания върху човешки овариални клетки и фрагменти” и предлагам на автора ст. н. сътрудник д-р Пламен Тодоров Тодоров да бъде ПРИСЪДЕНА научната степен „доктор на науките” по научната специалност 01.06.18 „Клетъчна биология”.

10. 01. 2018 г.

Рецензент:

/проф. д-р Филип Куманов, дм, дмн/