

РЕЦЕНЗИЯ

Изготвена: от доц. Пламен Тодоров, дбн, от Институт по биология и имунология на размножаването – БАН, член на Научно жури, назначено със Заповед РД 38-516/27.10.2020г. на Ректора на Софийския Университет „Св. Климент Охридски“

Относно: дисертационен труд на тема „*Оценка и оптимизиране на витрификацията на човешки предимплантационни ембриони и яйцеклетки*“, за придобиване на образователната и научна степен „доктор“ в професионално направление ш.4.3. „Биологически науки“, научна специалност ш.01.06.18. „Клетъчна биология“, разработен и представен за защита от Любослава Димитрова Вълкова

Информация по процедурата: Дисертационният труд е обсъден и насрочен за защита по предложение на катедра „Цитология, хистология и ембриология“ към Биологическия факултет на СУ. Процедурата е приета и журито е утвърдено на Заседание на Факултетен съвет (Протокол 12/13.10.2020г.). Представени са всички необходими документи, включително справка за съответствие на националните критерии. Считаю, че са спазени Изискванията на ЗРАСРБ и Правилника за неговото приложение, както и препоръчителните критерии на Софийския университет за придобиване на образователната и научна степен „доктор“.

Информация за кандидата: Любослава Вълкова е родена на 29.01.1979г. в гр. Плевен. Висшето си образование завършва в Биологическия факултет към СУ през 2002г., като придобива образователната степен „магистър“ (специалност клетъчна биология и биология на развитието). През периода 2002-2003г. работи като биолог-специалист в Института по молекулярна биология към БАН. От 2003г. понастоящем работи като ембриолог в САГБАЛ „Д-р Щерев“. Владее английски език, има няколко публикации, включително в списания с импакт фактор. Участвала е с презентации в работата на множество научни форуми в страната и чужбина. Членува в редица наши и международни научни асоциации. Сертифициран старши ембриолог (Senior Clinical Embryologist) е от Европейската асоциация по човешка репродукция и ембриология (ESHRE).

Личните ми впечатления от кандидата са изцяло положителни. Познавам Любослава от дългогодишната ни съвместна работа в областта на асистираната репродукция, както и от членството и в Българската асоциация по репродуктивна човешка ембриология, на която съм Председател. Смяя да твърдя, че Любослава Вълкова е много добре подготвен специалист, владееща съвременни методи за работа с гамети и ембриони, способна сама да планира и провежда експериментите. Ползва се с уважението на колегите си не само в страната, но и в чужбина.

Актуалност на темата на дисертационния труд: Достиженията на криобиологията дават възможност да се замразяват и съхраняват биологични обекти с различни нива на организация, включително гамети, ембриони и репродуктивни тъкани. Криоконсервацията на сперматозоиди отдавна е намерила своето рутинно приложение в медицината. Поставен е въпросът със замразяването на яйцеклетки и ембриони. Все още няма унифицирани протоколи за тяхната консервация, различните екипи използват различни методики и среди за замразяване. Спорен е въпросът на кой ден след оплождането е редно да се извършва криоконсервацията, на какви минимални критерии следва да съответстват

яйцеклетките и ембрионите, за да бъдат замразени и др. В този аспект считам, че представеният дисертационен труд, с който се цели да се изследва влиянието на различни фактори върху ефективността на процеса на витрификация на човешки ооцити и предимплантационни ембриони е актуален, а получените резултати имат както фундаментално, така и практическо значение.

Структура на дисертационния труд:

Като обем и структура дисертационния труд съответства на изискванията. Присъстват всички необходими раздели, дисертацията е 129 стр. Състои се от Съдържание – 4стр., Списък на използваните съкращения – 1стр., Въведение – 2стр., Литературен обзор – 19стр., Цел и задачи – 2стр., Материал и методи – 9стр., Резултати – 44стр., Обсъждане – 13стр., Заключение – 1стр., Изводи – 1стр., Приноси – 1стр., Списък на научни публикации, свързани с дисертационния труд – 2стр., Доклади на научни форуми по темата на дисертационния труд – 1стр., Списък на използваната литература – 14стр. и Приложения – 8 стр. Налице е добър баланс в структурата между отделните части на научния труд, с превалиране на обема на научните резултати и тяхното обсъждане.

Дисертационният труд е онагледен с 31 фигури, 34 таблици и 8 Приложения.

Във **Въведението** авторът обосновава изборът на темата на дисертационния труд, като разглежда основните случаи, в които се прилага криоконсервация на яйцеклетки и ембриони, както и мотивира необходимостта от изследвания върху различните клинични и ембриологични фактори, оказващи влияние върху успеваемостта на процеса на замразяване.

Литературен обзор: Обзорът е обширен, като изчерпателно обхваща всички аспекти на проблема и дава информация, която обслужва избраната научна тема и има приносен характер. Той включва няколко подраздела. Първоначално кандидатът разглежда значението на инфертилитета като социален и медико-биологичен проблем и възможността за използване на асистирани репродуктивни техники за неговото лечение. Достатъчно ясно са описани различните етапи от технологията за ин-витро оплождане - овариална стимулация, получаване и оплождане на яйцеклетките, култивиране на предимплантационните ембриони, ембриотрансфер.

Логично, с оглед тематиката на дисертационния труд, голяма част от обзора е посветен на процесът на криоконсервацията. Описани са основните фактори, които влияят върху биологичните обекти в процеса на охлаждане и какви увреждания настъпват в клетъчните структури. Авторът разглежда и подходите за криозащита - използване на криопротектори (проникващи и непроникващи), избор на подходящи режими и скорости на замразяване и размразяване. Представени са съставите на различните разтвори за витрификация, приспособленията за витрификация, както и самите процеси на подготовка, замразяване и размразяване.

Подробно са описани методите за криоконсервация на различните репродуктивни клетки и тъкани – сперматозоиди, яйцеклетки, предимплантационни ембриони, овариална и тестикуларна тъкан. Ясно личи отличната теоретична подготовка и познаването на специализираната литература от страна на кандидата.

Обзорът е онагледен с 2 подходящо подбрани фигури. Въз основа на набелязаните в обзора проблеми, авторът обосновава целта и задачите на настоящия дисертационен труд.

Цел и задачи: Целта на дисертационен труд е на базата на собствени резултати да се направи обстоен анализ на метода за криоконсервация „витрификация“ и да се оптимизира процесът при човешки предимплантационни ембриони и яйцеклетки

Така поставената цел предполага решаването на четири основни задачи, които са достатъчно точно формулирани. Към три от задачите са изведени по няколко подзадачи, което внася допълнителна яснота относно постановката на експериментите.

Материали и методи: Изследванията са проведени в САГБАЛ „д-р Щерев“ в периода 2003-2016г. Експерименталният материал включва 2931 предимплантационни ембриона, получени ин-витро, и 64 яйцеклетки (замразени преди оплождане). Спазени са всички законови норми (получаване на информирани съгласия от страна на пациентите и др.).

Застъпени са широка гама медико-биологични методи – получаване на ооцити, оплождане и култивиране ин-витро на получените ембриони, методи за оценка на яйцеклетки и ембриони, методи за криоконсервация, използване на лазер, ко-култивиране със соматични клетки и др. Методиките са описани достъчно ясно и подробно, което позволява възпроизвеждане на експериментите. Използването на съвременна апаратура и среди и консумативи на водещи фирми-производители гарантира достоверността на получените резултати. Извършена е много добра статистическа обработка на получените резултати.

Не буди съмнение личното участие и принос на автора в експериментите. В това отношение ясно личи, че докторантът е усвоил и успешно прилага редица методи.

Резултати и обсъждане: Представените резултати са оригинални и в достатъчен обем, имат както практическо, така и теоретично значение. Те са разделени по групи, в съответствие с планираните задачи и подзадачи.

На базата на изследвани и статистически обработени голям брой случаи авторът е установил кои са основните фактори (физиологични и лабораторни), влияещи върху качеството на яйцеклетките и ембрионите в процеса на витрификация. Те са подробно дискутирани и съпоставени с известните досега данни.

Доказателственият снимков материал в дисертационния труд е с много високо качество.

Приятно впечатление прави отличната статистическа обработка и представянето на резултатите в таблици и графики. Кандидатът е показал умение не само да тълкува собствените резултати, но и да ги съпоставя с данните, получени от други автори, което свидетелства за отлично познаване на материала. На базата на получените данни са направени и внедрени в практика подобрения в методиката за витрификация, които са довели до съществено увеличаване на успеваемостта (на клиничните бременности и родени деца след трансфер на замразени ембриони и яйцеклетки).

Категорично съм убеден, че резултатите са оригинални и не може да става и дума за каквато и да било форма на плагиатство.

Изводи и приноси: От извършените изследвания са изведени 8 извода, които приемам, и са формулирани 3 приноса. Изводите коректно отразяват получените резултати.

Списъкът на използваната литература съдържа 274 източника, подредени по реда на цитирането в дисертацията, от които 3 на кирилица и 271 на латиница. Те са цитирани коректно там, където трябва, съобразно задачите на дисертационния труд.

Забележки към дисертационния труд:

Неизвестно защо надписите във Фиг.1 (в обзора) са на английски език;

Добре би било да се уточни кои от направените изводи са оригинални и кои с потвърдителен характер;

Логично е броят на направените изводи да съответства приблизително на броя на поставените задачи. В случая задачите са 4, а изводите – 8. Това вероятно е следствие от факта, че към някои от задачите има формулирани подзадачи;

Два от цитираните в списъка на литературата източника са дисертации на български език, за които нито е даден линк къде евентуално са качени, нито информация в коя библиотека се съхраняват, т.е. цитирането им е безсмислено, тъй като не могат да бъдат открити и да се направи справка;

Излишно според мен е в автореферата да се дава литературна справка (списък на цитираната литература).

Следва да се отбележи, че направените от мен критични бележки са от техническо естество и в никакъв случай не омаловажават достойнствата на представения ми за рецензия дисертационен труд. За мен лично настоящият дисертационен труд е един прекрасен пример за връзка наука-практика и за трансляция на знания в областта на криобиологията и репродуктивната медицина.

Публикации във връзка с дисертационния труд: Кандидатът е представил 9 публикации (две от тях под печат), свързани с дисертационния труд. В 7 от тях Любослава Вълкова е водещ (първи) автор, което е индикация за активното и участие в проведените изследвания. Резултатите са представени и на няколко научни форума (включително международни) под формата на постери и доклади. Следва да се отбележи, че повечето абстракти на докладите са публикувани във водещи международни издания – (Human reproduction – 6 бр., и J Assist Reprod Genet – 1 бр.)

Автореферат: Авторефератът (51 страници) е изготвен съгласно изискванията на български и английски език и отразява всички основни резултати и приноси на дисертационния труд.

Заключение: Представеният ми за рецензия дисертационен труд е актуален от научна и практическа гледна точка. Неговите достойнства, както и изпълнените изисквания за необходимите количествени и качествени критерии съгласно ЗРАСРБ, ППЗРАСРБ и Правилника за развитие на академичния състав на Софийския университет „Св. Климент Охридски“, ми дават основание да предложа на уважаемите членове на научното жури да присъдят на Любослава Димитрова Вълкова научната и образователна степен „ДОКТОР“ по специалност ш.01.06.18. „Клетъчна биология“.

25.11.2020г.

Изготвил Рецензията:

/доц. П.Тодоров, дбн/