

бх. № 335/22.05.2018г.

## РЕЦЕНЗИЯ

**Относно:** материали, представени за участие по конкурс за присъждане на образователна и научна степен „Доктор“, към Институт по невробиология, Българска академия на науките, направление: Биологични ефекти на природни и синтетични вещества, .

**Докторант:** Галина Трайкова Ненкова, докторант на самостоятелна подготовка

**Научна специалност:** научна специалност – „Физиология на животните и човека“, област на висше образование 4. Природни науки, математика и информатика, професионално направление 4.3 Биологически науки

**Научни консултанти:** доц. д-р Албена Александрова и доц. д-р Росен Стефанов

**Тема на дисертацията:** Проучване действието на десферал върху качеството на сперматозоиди в условия на оксидативен стрес

**Рецензията е изготвена от:** проф. д-р Мария Иванова, дсн, директор на Институт по биология и имунология на размножаването „Акад. Кирил Братаванов“, Българска академия на науките

### I. Основание за изготвяне на рецензията:

I. Изпълнение на образователната програма – задължителни кредити 130.

II. Изпълнение на научната програма - Докторантката представя 9 доклада пред научни мероприятия в чужбина или пред научни мероприятия у нас, от които на 6 е първи автор, за което има 248 точки.

III. Публикации на научни резултати по темата на дисертацията: 3 бр., в списания с ИФ, общ ИФ – 4.197 – общ брой точки 180.

Забелязани цитирания на посочените по-горе публикации: 6

Общ брой кредитни точки от изпълнение на образователната и научна програма: 558.

Приложени са сертификати за участие в специализирани курсове, както и за допълнителни активности, свързани с участието на симпозиуми и научни конференции.

Приложени: заповед за зачисляване 108 от 30.03.2015 г.; заповед за отчисляване 276 от 31.07.2017 г.; заповед за НЖ №182 от 17.05.2018 г. и заповед 183 от 21.05.2018 г.

Основание, съгласно ЗРАСРБ и ППЗРАСРБ, Правилника за условията и реда за придобиване на научни степени и заемане на академични длъжности в БАН.

Предадените ми научни материали – дисертация, автореферат, автобиография, списък и копия на научни публикации, участия с доклади на научни форуми и цитации, диск, съдържащ нужната по конкурса информация.

### 2. Методични указания за изготвяне на рецензията

Правилник за изискванията, условията и правилата за придобиване на научни степени и заемане на академични длъжности в Институт по невробиология при Българска академия на науките;

Препоръчителни специфични допълнителни изисквания за заемане на академичните длъжности "Асистент", "Главен асистент", "Доцент" и "Професор" и за допускане до защита на дисертационен труд в Института по невробиология, БАН;

Закон за развитие на академичния състав в Република България;  
Правилник за прилагане на Закона за развитието на академичния състав в Република България;

Правилник за условията и реда за придобиване на научни степени и за заемане на академични длъжности в Българска академия на науките.

### **3. Персонална насоченост на рецензията**

Представен е дисертационен труд от Галина Трайкова Ненкова, докторант на самостоятелна подготовка към Института по невробиология, БАН. През 2002 – 2006 г. Галина Ненкова получава образователно-квалификационна степен бакалавър по „Молекулярна биология“, към Софийски университет „Св. Климент Охридски“, Биологически факултет. По късно, през 2006 – 2008 г. Галина Ненкова получава образователно-квалификационна степен: магистър по „Вирусология“, към Софийски университет „Св. Климент Охридски“, Биологически факултет, Катедра Микробиология. Разработва и защитава дипломната работа, на тема: „Проучване на вероятността за вертикална трансмисия на ВК-вирус“.

От юни 2007 до ноември 2008, работи като специалист - биолог към Институт по невробиология, БАН, направление „Биологични ефекти на природни и синтетични вещества“. По късно от 2008 до 2011 г. е научен сътрудник в същия институт. От 2011 – 2015 г. Галина Ненкова е асистент, а от 2015 г. е зачислена като докторант на самостоятелна подготовка. Прави впечатление, че като млад учен Галина Ненкова е преминала редица научно- образователни курсове, голяма част от които са в чужбина – Франция Испания, Англия и др. Впечатляващо е личното участие на Галина Ненкова с доклади или постери на редица научни форуми, от които повечето са в срани от ЕС. Докторантката усъвършенства интересите си към изследвания върху свободно-радикални процеси, ембриология и репродукция.

Като цяло научната продукция на Галина Трайкова е значителна за млад учен – 12 научни публикации и 27 участия с доклади и постери на научни събития в страната и чужбина.

### **4. Обща количествена оценка на научните трудове:**

Галина Трайкова Ненкова е представила дисертация, написана на 109 страници, съдържа 19 фигури и 10 таблици. Списъкът с цитираната литература съдържа 173 заглавия. Представени са 3 публикации, в списания с общ ИФ – 4.197, свързани с темата на дисертацията.

Дисертацията е обсъдена и е предложена за защита на научен семинар на Института по невробиология – БАН, състоял се на 24 април 2018 г.

Уводът и литературния обзор са представени на 28 страници. Прави впечатление нагледното и последователно представяне на литературни данни, които по смисъл са свързани с темата и задачите за изпълнение на дисертацията. Особено място е отделено на оксидативния стрес и връзката с безплодието. Разгледани са редица екзогенни и ендогенни фактори, свързани генерирането на АФК в семенни проби. Също така, е обърнато внимание на възможността за използване на компесаторни подходи за осъществяване на антиоксидантна защита на гаметите. Прави добро впечатление, че цитираните автори са подбрани прецизно и са предимно от последните години. Като завършек на литературния обзор, авторката обосновава очертава целите на дисертацията и описва задачите, необходими за изпълнението.

Целта е добре обоснована, написана е ясно и конкретно. Докторантката предлага, чрез прилагане на метални хелатори, да се запази и подобри качеството на сперматозоидите, използвани в асистираните репродуктивни технологии. Задачите за изпълнението на целта са пет. Прави добро впечатление, че задачите съответстват на поставената цел и изпълнението им ще допринесе за изработване на цялостна стратегия, с което може да се повиши успеваемостта при практично използване в асистираната репродукция.

Разделът „Материал и метод“, е представен на 11 страници. Докторантката се е постарала да опише подробно и ясно методичните подходи за работа. Добре би било да се отрази, че при получаване на еякулатите е работено, съобразно изискванията за хуманно отношение към животните. При работа с материал от мъже и жени има съгласие от пациентите, отразено с информирано съгласие. Представеният снимков материал – фигури 3, 4 и 5 правят отлично впечатление и доказват личното учатие на докторанта при провеждането на експериментите. Проведеният Comet assay е един точен метод за диференциране на ДНК фрагментация при сперматозоиди. За животни, е доказано че ДНК е много добре пакетирани и се изискват някои допълнителни процедури за получаването на добри резултати. Добре би било докторантката да уточни дали е прилагала подобна техника за сперматозоиди от хора.

Всички използвани методи за изпълнение на работната програма са съвременни и са напълно съобразени, за да може да се проведе цялостното изследване. Проведен е специализиран статистически анализ за доказване на достоверност на получените данни.

Разделът „Резултати“ е представен на 27 страници. Резултатите от проведените анализи на нива на някои метални йони и връзката с антиоксидантната ензимна активност в семенни проби на мъже с репродуктивни проблеми, са приложени в 4 групи пациенти по 6 пациента от всяка група. След всяка таблица има статистическа обработка на данните и оценка за достоверност на различията в получените данни. Докторантката е направила анализ върху нивата на някои метални йони и връзката с антиоксидантна ензимна активност в семенни проби на мъже с репродуктивни проблеми, както и анализ на активност на антиоксидантните ензими в семенна плазма на пациенти в норма и патология. Този подход позволява да достигне до някои важни заключения, нужни за следващия етап на изследванията.

Докторантката провежда проучвания върху влиянието на десферал върху сперматозоиди от нерез, подложени на оксидативен стрес. Счита, изследванията направени със сперма от нерез, като един добър подход, допълващ изследванията на сперматозоиди от хора. Използването на животински модели, подпомага постигането на крайната цел на дисертационния труд. Проведеният CASA анализ дава богата информация за мотилитета и скоростните параметри на сперматозоидите от нерез, както и върху морфологичния статус. Опитите са проведени с 18 еякулата. Получените резултати са основани на доказани достоверни различия и касаят протекция на морфологията на сперматозоидите и по висока активност на GSH-PX, в присъствието на FeSO<sub>4</sub> или на H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Добре би било по тази задача да се дадат повече данни, касаещи скоростните параметри на сперматозоидите. Тълкуването на такива данни биха били от полза при оформянето на крайните заключения.

Изследваната върху ефекта на Десферал върху човешки сперматозоиди, подложени на оксидативен стрес, са естествено продължение от предходните

задачи. Резултатите от изследванията дават основание на докторанта да твърди, че инкубирането на сперматозоидите в присъствие на водороден пероксид и желязни йони (Фентонова система) води до статистически достоверно увеличаване на нивата на ТБК-РС, а добавянето на хелатор, подобно като при сперматозоиди от нерез и в този експеримент понижава нивата на ТБК-реагиращите съединения.

Смисълът на дисертационната тема добива завършен и цялостен вид с проведените изследвания за влиянието основен фактор, а именно морфологията на сперматозоидите върху развитието на нормални ембриони и имплантирането. Тази част от дисертацията има особена тежест и е свързана с анализи на инфертилитет при 713 двойки, от които 266 са с доказан инфертилитет поради мъжкия фактор.

В търсенето на отговор за някои от причините за безплодието, докторантката е направила задълбочен сравнителен анализ върху промени в структурата на ДНК при здрави пациенти и такива с олигоастенотератоспермия и астенотератозооспермия. С получените данни, докторантката доказва, че в еякули на пациенти с олигоастенотератозооспермия съдържа изключително висок процент – 98.7% сперматозоиди със слабо увредена ДНК (спермопласти) и едва 1% сперматозоиди без разкъсвания в ДНК веригата. Доказано, че индуцирането на Фентонова реакция в този случай увеличава процентът на кометите до 1.3%, докато добавянето на десферал подобри целостта на хроматина при 99.8% от анализираниите гамети. В семенни проби на пациенти с астенотератозооспермия са отчетени 22% спермални ядра без ДНК фрагментации, 74% спермопласти и 4% комети. В условия на ОС, спермопластите се повишават до 100%, а добавеният десферал възстановява целостта на генетичния материал при 99.6% от сперматозоидите.

Разделът „Дискусия“ заема 20 страници. Бих искала да изкажа похвала за начинът, по който докторантката е оформила този раздел. Ясно личи, че е добре запозната с други научни разработки по темата на дисертацията. Умело коментира своите постижения и ги сравнява с резултати на други учени в тази област. С получените резултати и сравнението на такива, получени от други изследователи, се доказва актуалността и ползата за практическото приложение на постигнатото в настоящата дисертация за асистираната репродукция при хора.

Завършекът на дисертационния труд е с 5 извода и 4 приноса с иновативен характер. Изводите са ясни и отразяват цялостно резултатите от изследванията. Приносите показват, че докторанта Галина Ненкова при разработването на дисертационния труд е получила резултати, които са нови и някои от тях могат да бъдат използвани в практиката на репродуктивната биология, с което може да се подпомогне решаването на проблеми с инфертилитета, свързани с мъжкия фактор.

Представените 173 литературни източника са подредени съгласно изискванията за библиографска справка. Всички автори са отразени в отделните раздели на дисертацията.

### **5. Заключение**

Представеният за рецензия дисертационен труд и автореферат на тема: „Проучване действието на десферал върху качеството на сперматозоиди в условия на оксидативен стрес“ от докторант на свободна докторантура Галина Трайкова Ненкова, отговарят на всички изисквания за подготовка, разработване и

задачи. Резултатите от изследванията дават основание на докторанта да твърди, че инкубирането на сперматозоидите в присъствие на водороден пероксид и железни йони (Фентонова система) води до статистически достоверно увеличаване на нивата на ТБК-РС, а добавянето на хелатор, подобно като при сперматозоиди от нерез и в този експеримент понижава нивата на ТБК-реагиращите съединения.

Смисълът на дисертационната тема добива завършен и цялостен вид с проведените изследвания за влиянието основен фактор, а именно морфологията на сперматозоидите върху развитието на нормални ембриони и имплантирането. Тази част от дисертацията има особена тежест и е свързана с анализи на инфертилитет при 713 двойки, от които 266 са с доказан инфертилитет поради мъжкия фактор.

В търсенето на отговор за някои от причините за безплодието, докторантката е направила задълбочен сравнителен анализ върху промени в структурата на ДНК при здрави пациенти и такива с олигоастенотератоспермия и астенотератозооспермия. С получените данни, докторантката доказва, че в еякули на пациенти с олигоастенотератозооспермия съдържа изключително висок процент – 98.7% сперматозоиди със слабо увредена ДНК (спермопласти) и едва 1% сперматозоиди без разкъсвания в ДНК веригата. Доказано, че индуцирането на Фентонова реакция в този случай увеличава процентът на кометите до 1.3%, докато добавянето на десферал подобри целостта на хроматина при 99.8% от анализиранияте гамети. В семенни проби на пациенти с астенотератозооспермия са отчетени 22% спермални ядра без ДНК фрагментации, 74% спермопласти и 4% комети. В условия на ОС, спермопластите се повишават до 100%, а добавеният десферал възстановява целостта на генетичния материал при 99.6% от сперматозоидите.

Разделът „Дискусия“ заема 20 страници. Бих искала да изкажа похвала за начинът, по който докторантката е оформила този раздел. Ясно личи, че е добре запозната с други научни разработки по темата на дисертацията. Умело коментира своите постижения и ги сравнява с резултати на други учени в тази област. С получените резултати и сравнението на такива, получени от други изследователи, се доказва актуалността и ползата за практическото приложение на постигнатото в настоящата дисертация за асистираната репродукция при хора.

Завършекът на дисертационния труд е с 5 извода и 4 приноса с иновативен характер. Изводите са ясни и отразяват цялостно резултатите от изследванията. Приносите показват, че докторанта Галина Ненкова при разработването на дисертационния труд е получила резултати, които са нови и някои от тях могат да бъдат използвани в практиката на репродуктивната биология, с което може да се подпомотне решаването на проблеми с инфертилитета, свързани с мъжкия фактор.

Представените 173 литературни източника са подредени съгласно изискванията за библиографска справка. Всички автори са отразени в отделните раздели на дисертацията.

### **5. Заключение**

Представеният за рецензия дисертационен труд и автореферат на тема: „Проучване действието на десферал върху качеството на сперматозоиди в условия на оксидативен стрес“ от докторант на свободна докторантура Галина Трайкова Ненкова, отговарят на всички изисквания за подготовка, разработване и

представяне на дисертационен труд. Темата е изключително актуална и е свързана с решаване на важен демографски проблем, който в последните години представлява интерес за много учени по света, а именно: репродуктивното безплодие, причинено от мъжкия фактор. Докторантът Галина Трайкова Ненкова е покрила всички препоръчителни критерии по кредитната система, съгласно Правилника на ЦО на БАН. Отговаря на препоръчителните наукометрични показатели на Института по невробиология, БАН, като дори надвишава повечето от тях. Разработеният дисертационен труд е оценка за получените знания и умения от докторанта Галина Трайкова Ненкова да работи със съвременни научно изследователска апаратура и методи и да прави съответна научна интерпретация на постигнатите резултати. Всички представени документи съответстват на ЗРАСРБ и на Правилника за приложение на закона.

Бих искала да изкажа подкрепата си за представения дисертационен труд и за цялостната научна работа от Галина Трайкова Ненкова. Препоръчам на уважаемите членове на НЖ да присъдят образователна и научна степен „Доктор“ на Галина Трайкова Ненкова по научна специалност – „Физиология на животните и човека“, област на висше образование 4. Природни науки, математика и информатика, професионално направление 4.3 Биологически науки

22.05.2018 г.

София

Рецензент:

проф.д-р Мария Георгиева Иванова, д.с.н.