

СТАНОВИЩЕ

върху дисертационен труд за присъждане на образователна и научна степен “доктор” по научна специалност 01.06.06 “Генетика”

Автор на дисертационния труд **Теодора Кирилова Тасева**, лаборатория “Геномна динамика и стабилност”, ИФРГ-БАН

на тема: “ **Влияние на етанола върху ембрионалното развитие, експресията и метилационния статус на импринтиран локус Igf2/H19 при мишки**”

От доц. **Милена Сергеева Мурджева**, секция “Молекулярна имунология”, Институт по биология и имунология на размножаването, БАН

Актуалност на дисертационния труд

Демографската криза е един от най-сериозните проблеми пред съвременните развити общества. Като част от подходите за преодоляването ѝ все повече внимание се обръща на репродуктивните проблеми. Изследванията на тератогени, които имат ефект по време на бременността, са от съществено значение за здравето както на майката, така и на детето и то през целия му живот. Интерес буди широката вариабилност във фенотипните изяви в отговор на различни фактори на въздействие като храни, лекаства, стрес, замърсители, злоупотреба с вредни вещества. Отговор могат да дадат генетични изследвания, съчетани с проучвания на епигенетични механизми като медиатори на неблагоприятните ефекти.

В настоящия дисертационен труд е изследван ефектът на етанола по време на ембрионалното развитие, като вниманието е фокусирано върху предимплантационния период. Този период е подходящо избран, защото тогава геномът на ембриона се активира и вследствие на епигенетично репрограмиране, започва диференциация на клетките. Изследвани са промените в епигенетичния статус на импринтирани гени от локус Igf2/H19, регулатори на растежа на ембриона и плацентата. В резултат на работата е създаден модел на изследване на тератоген, който може успешно да бъде използван за установяване ефекта на други вещества.

Литературна осведоменост

Литературният обзор е изчерпателен, логично структуриран и написан разбираемо и четивно. Обобщена е значителна по обхват литература от 379 източника. Умело са преплетени базовата информация, необходима поради широкия спектър от засегнати теми, с последните публикувани изследвания. Това превръща обзора в изключително полезно четиво за хора, които не са тесни специалисти. Въпреки това информацията е

фокусирана върху проблема и не намирам нищо излишно. Искам да подчертая и значителното стилово и техническо подобряване на тази част след предварителната защита.

Цел, задачи и методи

Формулирана е работна хипотеза, търсеща епигенетичните основи на ФАС (Фетален алкохол синдром). Целта е поставена ясно и конкретно, от нея логично произтичат задачите. Аргументирано е използването на избраната инbredна линия мишки като модел за изследването. Експерименталните постановки и групите в изследванията са подбрани коректно и детайлно изяснени. Използвани са разнообразни методи, които обхващат наистина впечатляващ диапазон – от работа с лабораторни животни и култивиране на ранни ембриони *in vitro*, през молекулярнобиологични, до прецизна статистическа обработка на резултатите.

Резултати и дискусия

В настоящия дисертационен труд е изследвано влиянието на етанола, приложен в условия *in vitro* и *in vivo* през предимплантационния период, върху растежа и развитието на ембриони и плаценти на експериментален модел - инbredна линия мишки от вида *Mus musculus*, порода C57BL/6. Ефектът на етанола е изяснен като са проследени промените във функцията и епигенетичния статус на импринтиран локус *Igf2/H19* - експресията на всичките четири промотора на *Igf2* - P0, P1, P2, P3 както и *H19*, и върху промени в нивата на метилиране на четирите DMRs на локуса DMR0, DMR1, DMR2 и DMRH19. Хипотезата на авторите е, че етанолът ще има деметилиращ ефект върху статуса на импринтирания локус, ще понижи експресия на *Igf2* и ще повиши експресията на *H19*, като очакват това да доведе до нарушение в нормалните процеси на ембрионален растеж и развитие. Изключително интересно развитие на работата е, че тази хипотеза се потвърждава по отношение ефекта на етанола при плацентата, но при ембрионите е опровергана.

Представени са осем извода и шест приноса, които напълно приемам. По-важни приноси и изводи, според мен, са:

Това е първият сравнителен анализ на ефекта на етанола върху експресията на импринтирани и неимпринтирани гени, проследен от фаза бластоцист до средата на бременността.

Установен е стимулиращ ефект на етанола, но само за предимплантационния период, и то в тесен концентрационен диапазон.

Ефектите на етнола са тъканно-специфични. Дори ниски дози етанол и краткотрайна експозиция, водят до дълготрайни промени.

Плацентата се проявява като най-чувствителна по отношение въздействието на етанола.

Излагането на етанол в пренаталния период променя експресията на набор от импринтирани и неимпринтирани гени – при два „housekeeping“ гена - Gapdh и ActB, също е отчетено етанол-индуцирано повишение на експресията.

Данните разкриват голямата чувствителност на импринтираните гени към въздействието на тератогенни агенти през ранната бременност.

Противоположните резултати при ембрионите и техните плаценти показват, че механизмите, стоящи в основата на действието на етанола, са много разностранни.

За първи път са представени данни, че етанолът модулира метилационния статус на DMR0 на Igf2/H19 локус в плаценти, и тази промяна е медиатор на физическа характеристика на ФАС.

Автореферат

Представеният автореферат съответства на пълния текст на дисертацията.

Научни публикации във връзка с дисертацията

Представени са две публикации, свързани с дисертацията, публикувани през 2015, на които Теодора е първи автор. Това напълно удовлетворява изискванията по кредитната система за докторанти на Центъра за обучение, БАН.

Заклучение

В заключение искам уверено да изразя своето становище, че дисертационният труд на Теодора Тасева отговаря на научните и образователни критерии за докторска степен. Работата впечатлява с изчистен работен план, изказана и проверена хипотеза. Експерименталните резултати са представени ясно и категорично, онагледени са добре, умело са дискутирани. В резултат на изследванията са формулирани изводи и приноси, част от тях с оригинален характер. Дисертацията е написана отлично. Убедено препоръчвам на членовете на Научното жури да вземат решение за присъждане на образователна и научна степен “доктор” в област на висше образование 4. „Природни науки, математика и информатика“, професионално направление 4.3. „Биологически науки“, научна специалност 01.06.06 “Генетика” на Теодора Тасева.

3 февруари 2017, София

Доц. Милена Мурджева