

СТАНОВИЩЕ

от проф. дбн Нина Атанасова, ИЕМПАМ-БАН, назначена със Заповед № 1083 от 22.11.2016 г. на Директора на ИФРГ-БАН, проф. д-р Сн. Дончева

относно: дисертационен труд на Теодора Кирилова Тасева, на тема **„Влияние на етанола върху ембрионалното развитие, експресията и метилационния статус на импринтиран локус при мишки Igf2/H19“** за присъждане на образователната и научна степен "Доктор", професионално направление 4.3. Биологически науки, научна специалност "Генетика", шифър 01.06.06.

Дисертационният труд на Теодора Тасева е адресиран към проблем от съществено фундаментално значение за епигенетичните механизми на действие на етанола върху ембрионалното развитие на организма, отличаващ се с висока актуалност, поради социалното си измерение и приложен потенциал за репродуктивното здраве на човека. В качеството си на тератоген с висок здравен риск, алкохолът е бил обект на дългогодишни изследвания и особено способността му да индуцира сериозни малформации в развиващия се плод и плацента, обединени в т.нар. фетален алкохол синдром. Независимо от това, все още са слабо проучени молекулярните механизми на вредното действие на етанола върху ембрионалния геном, манифестирано от промени в метилирането и експресията на ключовия импринтиран ген Igf2/H19. В този смисъл, предоставените нови данни в дисертационния труд на Теодора Тасева определено са полезни за разбиране на епигенетичния контрол на развитието, което се проектира в здравен аспект върху хуманната медицина.

Оригинално замислен, трудът е изключително прецизно и професионално изпълнен с прилагане на адекватно съчетани ин виво и ин витро експериментални подходи. Използвани са водещи, съвременни, молекулярно-биологични и статистически методи. Дисертационната разработка съдържа обичайните раздели с балансирано съотношение между тях. Обзорът е целенасочено развит, отличава се с ясен и стегнат стил и представя необходимата информация за въздействието на етанола в хода на ембриогенезата при мишка, последвано от подробно и разбираемо описание на сложните механизми на епигенетичния контрол. Авторката логично акцентира върху импринтирания Igf2/H19 локус и неговото клинично значение за развитието на организма. Високата й осведоменост се вижда от внушителния брой на използваните литературни източници – 379 на брой и всичките на английски език. В Раздел „Цел и задачи“ е направено

заклучение с неизяснените въпроси, последвано от формулиране на работна хипотеза, от която логично е изведена целта на труда и пет задачи със съвременно виждане за нейното изпълнение. Това гарантира получаването нови данни от съществено значение за разбиране на механизмите на епигенетичния контрол на ключовия за ембрионалното развитие импринтиран локус *Igf2/H19*.

В раздела „Материали и методи“ дисертантката старателно и подробно е описала използваните методи, което позволява тяхната възпроизводимост от други изследователи. Приложена е сложна ембриологична техника на изолиране и трансплантиране на бластоцисти, последвано от работа с миши ембриони. РНК и ДНК анализите са проведени със съвременна апаратура. Подробният статистически и корелационен анализ е на високо ниво, което гарантира надеждността на получените резултати.

Раздел „Резултати“ включва голям обем собствени данни на авторката, резултат от нейната трудоемка и прецизна работа с ембрионален материал. Те са представени систематично и прегледно, което допълнително улеснява читателя при намиране на логиката и взаимовръзката на данните от теглата, експресията на *Igf2/H19* и неговия метилационен статус при ембриони и плаценти след въздействие с ниска и висока доза етанол. Качеството на снимките на бластоцисти и ембриони е много добро и доказва наблюдаваните находки. Графичните данни са онагледени ясно и допълнително показване на стойностите върху стълбчетата, което е изключително полезно за разбиране на резултатите. Теодора Тасева е представила редица оригинални данни за стимулиране експресията на импринтирания ген *Igf2* след въздействие с етанол при ембрионите, за разлика от плацентите, където е установено понижение. Нещо повече, проведеният за първи път сравнителен анализ на експресията на импринтирания *Igf2* и неимпринтирания *Gardh* ген разкриват голямата чувствителност на импринтираните гени към въздействие от тератогенния агент етанол през ранната бременност. Това е съществен принос за намиране на маркерни гени за анализ на алкохолното въздействие, приложено в различни дози. Впечатляващо е търсенето от дисертантката на логично обяснение на промените в генната експресия на *Igf2* с епигенетичните изменения, индуцирани от етанола. Това се изразява в стимулиране на метилирането в третираните ембриони и неговото потискане в плацентите, доказано с противоположни промени в експресията на метилтрансфераза *Dnmt1* и нивата на метилиране на диференциално метилираните райони (DMR) на *Igf2/H19* локуса, в частност на *DMRH19* и *DMR0*, намиращ се в региона на плацентаспецифичния промотор *P0*. Деметилиращият ефект на етанола в плацентите е

статистически значим медиатор на тяхното редуцираното теглото в средата на бременността, което в последствие се явява медиатор на алкохолното въздействие върху теглото на ембрионите.

Дискусията е стегната, като постоянно се съпоставят собствените данни с тези от литературата, при което ясно изкрystalлизират оригиналните находки. Ясно и точно са формулирани **8** извода, от които са изведени **6** приноса. Като най-съществен оригинален принос намирам изясняване епигенетичните механизми на феталния алкохолен синдром, свързани с деметилацията ефект на етанола в плацентите в резултат на потиснато метилиране на DMR0.

По темата на дисертацията са отпечатани **2** научни публикации на английски език, едната в списание с импакт фактор – Доклади на БАН. Предвид високата оригиналност на дисертационния труд на Теодора Тасева, препоръчвам публикуване на резултатите ѝ в международни издания с импакт фактор.

Заключение: обемът и качеството на проведеното комплексно и подробно ембриологично и молекулярно-биологично изследване на етанол-индуцираните епигенетични промени в развиващите се фетуси, определят дисертационния труд на Теодора Тасева, като завършена и прецизно осъществена научна разработка с фундаментално и клинично значение. Впечатлена съм от високото научно ниво и професионализъм на изпълнение на дисертационния труд и от изискания научен стил при неговото написване и оформяне. Обемът и качеството на труда и успешното изпълнение на образователната и научна програма напълно покриват критериите на ЗРАС на РБ и съответните правилници за неговото приложение. С придобитите знания и умения Теодора Тасева е изграден учен, способен за самостоятелна научно-изследователска работа. Във връзка с горе-изложеното, с висока убеденост давам положителна оценка на дисертационния труд на Теодора Тасева на тема **Влияние на етанола върху ембрионалното развитие, експресията и метилационния статус на импринтиран локус при мишки Igf2/H19**“ за присъждане на образователната и научна степен "Доктор", професионално направление 4.3. Биологически науки, научна специалност "Генетика", шифър 01.06.06. Препоръчвам на членовете на почитаемото Научно жури да гласуват „**ЗА**“ присъждане на образователната и научна степен „**Доктор**“ на Теодора Тасева.

03.02.2017 г.

проф. Нина Атанасова, дбн