

РЕЦЕНЗИЯ

Научен секретар

МУ - Плевен

Вх. № *НС-205/30.08.2021г.*

на дисертационния труд на
Георги Маринов Големанов
Докторант в катедра „Химия и биохимия“, УНС „Биохимия“,
Факултет по фармация, Медицински университет - Плевен

на тема:

**„Носителство на полиморфизъм 4G/5G в гена на PAI -1
и полиморфизъм PL A1/A2 в гена на тромбоцитен гликопротеин Пб/Ша, като
възможни рискови фактори за репродуктивни проблеми при жени със синдром на
поликистозни яйчници”**

представен за присъждане на научна степен „ДОКТОР”
по научна специалност „Биохимия”, в област на висшето образование
4. „Природни науки, математика, и информатика”,
професионално направление 4.3. Биологически науки

изготвена от

*професор Диана Георгиева Иванова, доктор на биологическите науки,
Катедра по биохимия, молекулна медицина и нутригеномика при Факултета по
фармация на Медицински университет „Проф. д-р П. Стоянов” – Варна*

Съгласно решение на Академичния съвет на Медицински университет – Плевен (Протокол № 1 и заповед № 1299/01.06.2021 г. на Ректора на МУ-Плевен съм определена за член на Научно жури по процедура за защита на дисертационен труд за придобиване на ОНС „Доктор“, професионално направление 4.3. Биологически науки, докторска програма „Биохимия“, с кандидат **Георги Маринов Големанов**, докторант към катедра „Химия и биохимия“ при Факултет „Фармация към МУ-Плевен, а на първо заседание на НЖ съм определена да изготвя рецензия.

Процедурата по конкурса е спазена и документите на кандидата са пълни и в съответствие с изискванията на ЗРАС в Република България, Правилника за неговото приложение и Правилника за развитието на академичния състав в Медицински университет – Плевен и заложените в него критерии за придобиване на ОНС „Доктор“.

1. Биографични данни за кандидата

Георги Маринов Големанов има получени образователни степени „Бакалавър“ по биология и „Магистър“ по специалност „Биофармацевтична биохимия – приложна биохимия“ в Биологически факултет на Пловдивския университет „Паисий Хилендарски“, съответно през 2011 и през 2014 г. От 2015 г. е зачислен за специализация по биохимия към Медицински университет – Плевен, а от 2016 г. е докторант на самостоятелна подготовка към същия университет. Има допълнителни квалификации като медицински инструктор и като ветеринарен фелдшер, като какъвто и започва своето

кариерно развитие през 1996 г. В Медицински университет – Плевен постъпва след период на почти 10 годишна работа като старши инспектор в независима, акредитирана химична лаборатория, първоначално на длъжност „химик“ в периода 2012-2014 г., а от 2014 г. вече и като асистент по биохимия. От 2020 г. е назначен като изследовател към Вирусологичната лаборатория на Научноизследователския институт на Медицински университет – Плевен, като се включва активно в работата по изолиране и детекция на SARS-CoV-2 във връзка с усложнената епидемиологична обстановка в страната по това време.

2. Актуалност на дисертационния труд

Синдромът на поликистозните яйчници (СПКЯ) е сложно комплексно заболяване с не докрай изяснена етиология и каскадна патофизиологична изява, което предизвиква все още многобройни и разнопосочни научни търсения за по-детайлно разгадаване етиологията му и връзката му с често съпътстващите го репродуктивни проблеми.

Данните в международната научна литература по отношение изследване на генетичните фактори за предиспозиция към СПКЯ са недостатъчни. От друга страна, е ограничен броят на научните изследвания, проучващи връзката на полиморфизми в гените на някои фактори за тромбофилия със СПКЯ и съпътстващите го репродуктивни проблеми. При липсата на достоверни статистически данни за българската популация, настоящият труд си поставя за цел да проучи значението на два от по-рядко изследваните генетични полиморфизми в гена на тромбоцитен гликопротеин IIb/IIIa (PAI-15G/4G и PIA1/A2), като възможни фактори за предиспозиция за развитие на СПКЯ, както и за повишаване риска за репродуктивни проблеми при жени с това заболяване. Разработката на дисертанта допринася за един по-широк поглед в генетичната етиология на СПКЯ и ролята на някои генетични фактори за повишаване на риска, както за развитие на заболяването, така и за свързаните с него репродуктивни проблеми. В този аспект проучванията, представени в настоящия дисертационен труд, са посветени на актуален научен проблем.

3. Структура на дисертационния труд

Представеният дисертационен труд обхваща 131 страници и е структуриран както следва: въведение 2 страници, литературен обзор – 41 страници; цел и задачи на изследването – 2 страници, материали и методи – 25 страници, резултати и обсъждане – 44 страници, обобщение на собственото изследване – 2 страници, изводи – 1 страница, приноси – 1 страница, книгопис – 8 страници. Приложен е списък на съкращенията - 1 страница.

Цитирани са 126 литературни източници (всички на латиница). Дисертационният труд е онагледен с 36 таблици и 30 фигури и 2 приложения..

4. Литературна и методологична обезпеченост

Литературният обзор представя основните насоки на проучванията в областта на етиологията, клиниката, диагностиката и репродуктивните проблеми при СПКЯ, както и

разглежда проучвания върху различни генетични полиморфизми, асоцииращи със заболяването. Системният обзор на изследваните полиморфизми подчертава несъответствието на резултатите получени от различни проучвания, които са изследвали асоциацията между генетични полиморфизми и СПКЯ, и обяснява тези несъответствия с някои методологични фактори: например различия в изследваните популации (генетична хетерогенност, история), липса на единни критерии за диагноза и селекция, случайно действащи фактори или малкия брой изследвани проби, когато обикновено се изхожда от натрупаните знания при проучване на моногенни признаци, при които изменението в един ген има отчетлив ефект върху фенотипа. Представена е научна информация относно двата полиморфизма PAI-14G/5G и PLA1/A2 и тяхната роля, като рискови фактори за репродуктивни проблеми при жени със СПКЯ.

Литературният обзор включва илюстративен материал от 10 фигури и 3 таблици, които много добре онагледяват обобщенията на литературните данни и достиженията в областта, като улесняват читателя и плавно и логично го въвеждат в научната проблематика. Литературната справка и анализът на литературата е помогнало на ас. Големанов и неговите научни ръководители да формулират ясно целите и задачите на дисертацията. Към литературния обзор нямам съществени забележки по отношение обем и последователност на изложението. Литературният обзор е задълбочен, логичен и последователен и показва широките познанията на Г. Големанов относно синдрома на поликистозните яйчници като комплексно заболяване, връзката му с репродуктивните проблеми и факторите за предиспозиция към СПКЯ, в т.ч. генетичните фактори. Смущаваща е, обаче, липсата на заглавия сред цитираните източници от последните години. От изложението не става ясно дали подобни проучвания липсват или е пропуск на дисертанта да се запознае с тях.

Задачите са разписани подробно, последователно и логично за постигане на крайната цел, а именно да се проучи асоциацията между избрани полиморфизми и СПКЯ, с оглед оценка ролята на генетичните варианти за повишаване риска за развитие на заболяването и като фактори, повишаващи риска за репродуктивните проблеми при жени със СПКЯ, както и проучване ролята на двойното носителство на полиморфизми PAI-1 4G/4G и PLA2/A2, като фактор, повишаващ риска за репродуктивните проблеми при жени със СПКЯ.

Проучването е осъществено в периода 2016 г. – 2019 г. в Медицински университет гр. Плевен, факултет Фармация, катедра „Химия и Биохимия” – сектор Биохимия съобразно етичните норми при провеждане на терапевтично и нетерапевтично изследване върху хора, постановени от Комисията по етика на научно-изследователската дейност - КЕНИД при МУ- гр. Плевен. Изследването на генетичните полиморфизми е извършено в лабораторията за ДНК анализ към МУ – гр. Плевен, сектор «Биохимия». Проучването е финансирано по 5 научно-изследователски проекта на екипа към НИИ при МУ гр. Плевен. В проучването са селектирани две групи, група от 129 жени със СПКЯ и контролна група от 99 жени без СПКЯ, като при подбора на групите и на клиничния материал е ползвана и помощта на екип на Центъра за репродуктивна медицина „Репромед“ – гр. Плевен. Групата със СПКЯ е разделена и анализирана във

подгрупи, съответно без и с репродуктивни проблеми, анализирани във връзка с наличието на стерилитет и спонтанни аборти.

Представените в дисертационния труд резултати са получени и анализирани при умелото използване на богат набор от съвременни клинично-лабораторни, биохимични и молекулярно-биологични *методи*, които са много добро постижение за дисертанта. Материалите и методите са адекватно подбрани, за да се постигнат целите и задачите на проучването. Методите са представени информативно и ясно в раздела „Материали и методи“, на места в твърде много подробности. Например, това какво представляват праймерите или описанието на четирите дезоксирибонуклеотид трифосфати и за какво служат те са всеизвестни факти и, по мое мнение, излишно натоварват текста.

Данните от всички експерименти са подходящо обработени статистически с прилагането на статистическият пакет за социални науки (SPSS) Windows version 19.0, както и Clinical and Economic Software, EpiMax Table Calculator - Princeton, New Jersey USA.

5. Резултати и обсъждане

Най-обширната част от дисертацията на ас. Големанов е разделът „Резултати и обсъждане“ и тяхното обобщение (общо 46 стр.), където най-добре проличава обемът работа, извършен при разработването на дисертацията, и се очертават основните резултати с научна значимост. Резултатите са богато илюстрирани с фигури и таблици, които дават възможност за по-лесно възприемане на представените данни.

Получените резултати от настоящия дисертационен труд относно ролята на двата полиморфизма PAI-1 5G/4G и PL A1/A2, могат да бъдат обобщени както следва:

- Генетичен полиморфизъм PAI-1(-675 I/D, 5G/4G), най-вече в генотип 4G/4G (хомозиготи за алел 4G) демонстрира сигнификантна асоциация със СПКЯ (OR – 2.53), като може да се счита за фактор, повишаващ около 2.5 пъти риска за заболяването за българската популация. Още по-висока степен на асоциация (OR – 3.64) този генотип демонстрира при жените със СПКЯ и РП, което насочва към ролята на генетичния вариант за възникването на репродуктивни проблеми (най-вече спонтанни аборти, OR – 4.94), свързани с това заболяване. Носителството на генотип 4G/4G при жени със СПКЯ сигнификантно повишава до 3,5 пъти риска за репродуктивни неудачи.
- От друга страна, генетичен полиморфизъм PLA1/A2 (1565T/C) не може убедително да се счита като фактор, повишаващ риска, нито за развитие на СПКЯ, нито и за репродуктивни проблеми при жени с това заболяване. Значението на този вариант се демонстрира главно по отношение на риска за ранни спонтанни аборти, който сигнификантно се повишава до 17 пъти при жените със СПКЯ, носители на генотип A2/A2.
- Двойното присъствие на двата полиморфизма PAI-1 4G/4G и PL A2/A2 се открива с висок относителен риск (OR – 4.78) при жени със СПКЯ, макар и несигнификантно. Статистически достоверно, относителният риск за

откриване на двойно носителство е най-висок (OR – 28.00) сред жените със СПКЯ и ранни СПА. Това доказва ролята на двойното носителство на двата генетични варианта PAI-1 4G/4G и P1 A2/A2 при жените със СПКЯ като фактор, асоцииращ с повишен риск за репродуктивни неудачи под формата предимно на ранни спонтанни аборти. Двойното носителство на тези полиморфизми при жени със СПКЯ, покачва до 28 пъти риска за СПА до 12 г.с., като демонстрира адитивния ефект от съчетанието на няколко генетични фактори. Така изследването на полиморфизъм PAI-1 4G/5G, би могло да се използва в клиничната практика и за генетично консултиране, като генетичен маркер за оценка на риска както за развитие на заболяването СПКЯ (особено при фамилни данни), така и за репродуктивни проблеми при жените с това заболяване в българската популация.

Безспорно малката бройка на изследваните пациенти в отделните групи и подгрупи ограничава възможността за получаване на по-достоверни статистическите данни и вероятно повлиява крайните резултати. При евентуално продължаване на проучването разширяването на броя на включените в изследването жени със СПКЯ би позволило по-прецизен анализ на значението на съответния полиморфизъм както по отношение на предиспозицията към развитие на СПКЯ, така и по отношение на оценка на съпътстващите го репродуктивни нарушения при жените с това заболяване.

Представените от дисертанта изводи са конкретни, ясни и отразяват коректно получените резултати и тяхното значение. Приносите на настоящата дисертация са добре формулирани и могат да бъдат приети без забележки.

6. Автореферат и публикации

Запозната съм с автореферата и намирам, че той отразява напълно и адекватно съдържанието и постиженията на дисертацията. Представените във връзка с дисертационния труд публикации са в съответствие с изискванията на Правилника за развитието на академичния състав в Медицински университет – Плевен и съответната законова уредба за страната.

7. Критични бележки

Прави добро впечатление, че работата на докторанта е претърпяла положителни корекции съгласно препоръките на рецензентите след предварителната защита. Но остава смущаваща липсата на заглавия сред цитираните източници от последните 2-3 години, както и че цитираните източници от последните 5 години са под 10%. При прочита на дисертационния труд забелязах и някои технически грешки и неточности, като например липсата на резултати при описани Strip Assay CVD технология; несъответствие номерата на страниците в съдържанието и съдържанието; липса на единен стил в разписването на цитираната литература и други по-незначителни езикови и печатни грешки. Бих искала, да подчертая, че тези критични бележки, не омаловажават стойността на дисертационния труд и не променят моето положително впечатление за

работа, представена от Георги Големанов. Оценката ми за представената дисертация е изцяло положителна.

8. Заключение

Дисертационният труд на Георги Маринов Големанов, озаглавен „Носителство на полиморфизъм 4G/5G в гена на PAI -1 и полиморфизъм PL A1/A2 в гена на тромбоцитен гликопротеин IIb/IIIa, като възможни рискови фактори за репродуктивни проблеми при жени със синдром на поликистозни яйчници”, е приложно научно проучване, при което са получени оригинални данни по отношение на ролята на двата полиморфизма PAI-1 5G/4G и PL A1/A2 като възможни фактори за предиспозиция за развитие на СПКЯ, както и за повишаване риска за репродуктивни проблеми при жени с това заболяване. При проведените изследвания са използвани съвременни клиничко-биологични методи, реализирани прецизно на ниво, което заслужава висока оценка. Получени са резултати, водещи до оригинални научно-теоретични приноси. Считам, че настоящият дисертационен труд напълно отговаря на изискванията за съответната научна степен, формулирани от Закона за развитието на академичния състав в Република България, ППЗРАСРБ и Правилника за развитието на академичния състав в Медицински университет - Плевен. Това ми дава основание да гласувам положително „за“ и да предложа на уважаемите членове на научното жури да присъди образователно-научната степен „Доктор” по научна специалност „Биохимия” на Георги Маринов Големанов.

30.08.2021 г.
гр. Варна

Изготвил:.....
(проф. Диана Георгиева Иванова, д.б.н.)