



## РЕЦЕНЗИЯ

от професор. Алексей Славков Савов, д.б,  
Началник на Национална Генетична лаборатория,  
СБАЛАГ „Майчин дом“ ЕАД. МУ София

**Относно:** Дисертационен труд на Георги Маринов Големанов, асистент, докторант на самостоятелна подготовка, за придобиване на ОНС „Доктор“ в област на висше образование 4. Природни науки, математика и информатика; професионално направление 4.3 Биологични науки, докторска програма „Биохимия“ с тема на дисертационния труд „**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**“

Със заповед № 1299 / 01.06.2021г. на Ректора на МУ – Плевен съм избран за член на Научното жури във връзка с дисертационния труд на Георги Маринов Големанов. По процедурата за защитата асистент Големанов е представил всички необходими материали съгласно изискванията на „Правилникът за развитие на академичния състав“ в МУ–Плевен.

Декларирам, че нямам конфликт на интереси с автора на дисертационния труд.

### Кратки биографични данни за кандидата.

Георги Големанов е завършил „Професионална гимназия по ветеринарна медицина“ и Пловдивски университет „Паисий Хилендарски“ с магистратура по „Биофармацевтична биохимия“. От 2015 година е асистент към катедра по „Химия и Биохимия“ факултет по Фармация на Медицински университет град Плевен.

Във връзка с дисертационния труд са реализирани три публикации, от които една в реферирано списание и три участия в научни форуми, което съответства на изискванията на „Правилникът за развитие на академичния състав“.

Предоставеният ми за рецензия дисертационен труд е свързан с актуална и социално значима тема – изясняване ролята на някои генетични маркери, като рискови фактори за репродуктивни проблеми при жени със синдром на поликистозни яйчници (СПКЯ). По отношение на отрицателния демографски прираст, особено подчертан в последните десет години нашата страна е на едно от водещите места сред европейските страни. Като оставим на страна социалните фактори, изясняването на биологичните причини стоящи в основата на този проблем е от съществено значение за адекватна медицинска консултация. Дисертационния труд отразява традициите на сектор „Биохимия“ към катедра по „Химия и Биохимия“ на МУ Плевен в проучване ролята на множество молекулярно-генетични и имунологични биомаркери при генетични заболявания и предразположения.

Дисертационният труд **е структуриран съгласно приетите изисквания**, представен на 126 страници и съдържа 30 фигури и 36 таблици. Библиографията обхваща 126 литературни източника, на латиница.

**Доказателствения материал е с много високо качество и убедително свидетелства за професионалния опит, на докторанта.**

## 1. Литературен обзор по темата

Литературния обзор успешно се справя с не леката задача да систематизира информацията за едно сложно и комплексно заболяване, каквото е СПКЯ. Етиологията му не е изяснена напълно, като може да се приеме, че е мултифакториална, което обяснява наличието на многобройни и доста разнопосочни проучвания. Решението на докторанта да разгледа подробно клиничната картина и диагностичните критерии на заболяването и след това да потърси протективната или предразполагаща ролята на определени генетичните фактори е стъпка в правилна посока, която ще позволи интерпретацията на резултатите в контекста на клиничния фенотип. По отношение на генетичните маркери асистент Големанов представя едно добре синтезирано въведение на типовете генетични варианти и подходите за асоциативни проучвания. В тази част на литературния обзор добре проличава високата теоретична подготовка на докторанта в областта на генетиката. Впечатляваща е литературната извадка на тридесет и седем единонуклеотидни полиморфизми проучвани в

етиологията на СПКЯ. Противоречивия характер на резултатите може да бъде обяснен с популационни различия, използваните модели на асоциация, както и генетичната природа на анализирания вариант. Георги Големанов обсъжда преимуществата на геномните технологии, като значително по-информативен подход, но е факт, че тяхното рутинно приложение и обвързано с определени затруднения. Докторанта обръща особено внимание на два генетични маркера – *PAI 1* (OMIM 613329) член на семейството на SERPIN E1 и инхибитор на серинов тип протеинази и *GP IIb/IIIa* (OMIM 173470) принадлежащ към семейството на интегрините (*ITGB3*). И двата маркера са дискутирани по отношение на редица репродуктивни проблеми и са интересни кандидати за по- детайлни проучвания. Обръщам внимание, че за българската популация няма литературни данни за проучвания на пациенти със СПКЯ и изследвания в тази насока са с подчертан интерес.

**Заключението, което Георги Големанов прави в края на литературния обзор дава логична обосновка на поставените в настоящия дисертационен труд цели и задачи. Акцентът е върху носителство на генетични варианти в гени участващи в регуляцията на хемостазата и тяхната роля в повишаване риска за репродуктивни проблеми конкретно при жените със СПКЯ.**

## **2. Цели и задачи**

Целта е формулирана конкретно и във връзка с нея са определени пет задачи. След определяне на генотипните и алелни честоти на полиморфизми в гените за *PAI -1* и *GP IIb/IIIa*, ще бъде извършен статистически анализ с който да бъде оценена тяхната роля, като възможни фактори за предразположение към синдром на поликистозни яйчници и повишаване на риска за репродуктивни проблеми при жени с това заболяване.

## **3. Материали и методологичен подход**

Клиничната група в разработения дисертационен труд включва 228 лица (129 пациенти и 99 контролни лица) и е достатъчно голяма за провеждане на статистическа обработка. Тези са селектирани съгласно ревизираните критериите на утвърдени международни

**организации** – „Европейското дружество по човешка репродукция и ембриология“ и „Американското дружество за репродуктивна медицина“. Според анамnestичните данни **клиничната група е разделена на допълнителни подгрупи с цел по прецизна оценка на участието на генетичната компонента в конкретен клиничен фенотип.**

Отлично впечатление прави факта, че изследванията са извършени в рамките на пет изследователски проекта реализирани от изследователския екип.

Георги Големанов описва в детайли преданалитичната и аналитична част на лабораторните изследвания, с което доказва професионалния си опит в тази насока. Използвани са утвърдени методи за анализ на еднонуклеотидни полиморфизми – алелспецифична амплификация и рестрикционен анализ. За доказване на установените генотипове е използван диагностичен тест основан на алелспецифична хибридизация. Аз имам отлични впечатления от неговата работа по време на обучението си в Национална генетична лаборатория. Подхраните статистически методи за анализ на данните са изцяло подходящи за поставените цели. В тази глава са включени две фигури 11-та и 12-та, които представят резултати и е по-уместно да бъдат представени като резултати.

#### 4. Резултати

**Дисертационния труд на Георги Големанов се отличава с подробни анализи на получените резултати и компетентното им обсъждане в светлината на наличните литературни данни.**

По отношение на *PAI-1* (-675 I/D, 5G/4G) полиморфизма е установено, че генотип 4G/4G се среща статистически по-често в групата на жени със СПКЯ. Той може да бъде разглеждан като фактор допринасящ за предразположението към това заболяване. Интересен факт е, че в контролната група честотата на този генотип е определена на 15%, което е сравнимо с данните от други изследвания на извадки от българската популация.

Въпреки, че хетерозиготният генотип 4G/5G се среща по-често в клиничната група, той не показва статистически значима разлика спрямо контролната. В литературата хетерозиготният генотип има спорни тълкувания и само в някои проучвания е описан като

кумулативен ефект в комбинация с други генетични маркери. Установената асоциация на полиморфизма, с високите serumни нива на PAI-1 при пациенти с диабет тип II и миокарден инфаркт, както и комплексните метаболитни нарушения при СПКЯ включващи инсулинова резистентност, глюкозна нетolerантност, сърдечно-съдови заболявания и др. го определят като подходящ маркер за оценка на риска и модifikатор на клиничния фенотип. Данните от дисертационния труд на Георги Големанов показват, че хомозиготния генотип 4G/4G се среща статистически значимо по-често във всички подгрупи с изключение на тази със СПКЯ и вторичен стерилитет и очевидно има отношение към комплексната етиология на репродуктивните проблеми. Искам да подчертая, че тези данни са от съществено значение, в контекста на популационните различия установени в направените проучвания. Ролята на конкретен маркер е наложително да бъде оценена за дадена популация с оглед преценката на неговата прогностична стойност, защото не само функционалните му характеристики, но и редица модifikатори включващи културалните условия определят неговата тежест.

Друг генетичен маркер подложен на анализ е PLA1/A2 (1565T/C) в гена на *ITGB3*. Статистическите анализи показват, че този полиморфизъм не може да се счита убедително, като фактор за предизпозиция, повишаващ риска за развитие на СПКЯ, в Българската популация. Авторът оценява, че един от факторите, който вероятно се отразява върху крайните резултати, е недостатъчната големина на клиничната група и планира продължение на проучването, с включването на допълнителни пациенти, което би позволило по-адекватна оценка на значението на полиморфизъм за предразположение към развитие на СПКЯ.

Когато неговата роля се оценява спрямо отделните клинични подгрупи е установено, че носителството на генотип A2/A2, се среща с 8 пъти по-често сред жените със СПКЯ и репродуктивни проблеми представени от ранни спонтанни аборти. Относителният риск е повишен до 28 пъти и е статистически значим.

В много литературни източници се посочва комплексното влияние на комбинации от генетични маркери при мултифакторни заболявания каквото е СПКЯ. При сравняване на комбинираните генотипи 4G/4G на PAI-1 и генотип A2/A2 (1565T/C) най-висока честота и статистически значима разлика спрямо контролната група е установена само за жените със СПКЯ и ранни спонтанни аборти. Тези резултати са в подкрепа на описаното от други

изследователски групи и насочват към необходимостта от по обширни анализи включващи по-голям брой маркери и по-комплексна оценка на риска.

## 5. Изводи

Докторантът представя шест извода, които отговарят точно на поставените задачи. **Подкрепям направената от него финална оценка, за ролята на изследваните маркери в клиничната практика и генетичното консултиране, във връзка с оценка на риска, за развитие на заболяването СПКЯ и репродуктивни проблеми.**

## Заключение

Дисертационният труд на Георги Големанов прави впечатление с логичното изграждане на научната хипотеза, отличната организация на изследователската работа и го представя като изграден специалист в областта на генетиката и биохимията. Не мога да не отбележа уменията му да анализира и подлага на критика собствените резултати, както и да систематизира тези на други автори. Като се отчете липсата на достоверни данни за Българската популация, за ролята на генетични фактори за предразположението за развитие на СПКЯ, както и за риска за репродуктивни проблеми при жени с това заболяване, дисертацията има неоспорими приноси в тази насока както с научен, така и с приложен характер.

Давам висока положителна оценка на цялостната научна и изследователска продукция на автора и убедено препоръчам на научното жури да присъди научната степен „Доктор“ на Георги Маринов Големанов.

София 20.07.2021 год.

Член на НЖ:

(проф. д.б. Алексей Савов)