

Рецензия

От проф. д-р Искра П. Алтънкова, д.м.н.

за дисертационен труд на д-р Виолета Рилчева Славчева, докторант задочна форма на обучение към Катедра „Клинична лаборатория, клинична имунология и алергология“ – Медицински Университет – гр. Плевен,

за придобиване образователна и научна степен „Доктор“ по научната специалност “Имунология” (01.06.23)

Рецензията е изготвен според изискванията на Закона за развитие на академичния състав на Република България и Правилника за приложението му в Медицински Университет – гр. Плевен.

Оценка на актуалността на темата

През последните години значително се увеличи репродуктивната патология. Въпреки революционния напредък на асистираните репродуктивни техники (АРТ), успехът на процедурите е под очаквания, като най-често това се свързва с възрастта или други медицински причини на партньорката, а се пренебрегва „мъжкия фактор“ . Приема се, че при АРТ процедурите и особено при ICSI, че инжектирането на сперматозоид, най-често предварително “обработен”, в цитоплазмата на яйцеклетката осигурява необходимия принос на бащиния геном. За съжаление се пренебрегва възможността да възникне оплождане със сперматозоиди, които съдържат скрити ДНК аномалии.

Оказа се, че е много съществено да се оценява структурата на спермалния хроматин, което може да се постигне с изследване на ДНК фрагментацията на сперматозоидите, че това се отразява на резултатите както при бременност по естествен път, така и при АРТ процедури. Пилотни проучвания показват, че високите нива на ДНК фрагментация намаляват фертилитета при пациенти, подложени на АРТ, дори и те да са с напълно нормални конвенционални спермални параметри. Липсата на корелация между спермалните параметри и ДНК фрагментацията, определя последната като

потенциален източник на безплодие при нормозоспермични мъже и изисква допълнителна оценка на спермалната ДНК при мъжки стерилитет. Според ASRM «съвременните методи за оценка на интегритета на спермалната ДНК не предвиждат надеждно резултатите от лечението, и не е известно лечение с доказана клинична стойност». Настоящата работа задълбочено и обстойно разглежда изследванията в тази област като цялостно оценява ролята на мъжкия фактор и значението на ДНК фрагментацията на сперматозоидите в естествените и различните асистиранни репродуктивни процеси. Затова смятам, че дисертационният труд е актуален, навременен и много полезен за клиничната практика.

Оценка на дисертационния труд

Дисертационният труд е разработен по общоприетия модел: Литературен обзор (75 стр.), Цел и задачи, Материал и методи (25 стр), Собствени резултати(30 стр.), Обсъждане (12 стр.), формулирани са Изводи и Приноси (2 стр.). Работата е онагледена с 30 таблици и 23 фигури. Използвани и цитирани са 408 литературни източници, като библиографията не е номерирана по азбучен ред, а по реда на появата на източника в текста, което не е общоприетия стандарт, а и затруднява справките на читателя.

Работата започва с обстоен, но целенасочен литературен обзор, осветляващ всички аспекти на разработваните проблеми. Той е компетентно и ясно написан, но е доста пространен и представлява почти половината от труда. Значителна част се отнася за методологиите на изследване на различните параметри, което само по себе си е полезно като се има предвид новостта им и доста “неконтролираното” им използване от множеството лаборатории, които ги извършват, но в литературния обзор би могло да се представят по-лимитирано, за да изпъкне същността на разработвания проблем.

Целта на дисертационния труд е “проучване върху фрагментацията на спермална ДНК и нейното влияние върху изхода на процедурите по асистирана репродукция с цел подобряване на диагностичния подход и терапевтичното поведение при мъже, участващи в АРТ”. Във връзка с нея ясно и целенасочено са формулирани 6 **задачи**, които обхващат задълбочено проучване и

корелации на всички приети понастоящем изследвани параметри на т. нар. мъжки фактор (брой, подвижност и морфология и тератозооспермален индекс на сперматозоидите) и допълващото ново изследване на ДНК фрагментация както и възможни причини за нея като апоптоза, оксидативен стрес, урогенитални инфекции и криоконсервация. Предвидено е изследване на прогностичната роля на всички тези фактори при АРТ процедури.

Главата за използвания **клиничен материал и методите** е добре разработена. Ясно и обосновано са представени обособените тематични 8 групи пациенти, добре клинично дефинирани и достатъчни по брой за надеждна статистическа обработка, чрез която са осигурени резултатите. Впечатляват бройките на изследвани лица в групите, но никъде не видях общия брой на изследваните лица.

Оценка на собствените резултати

Резултатите са систематизирани на основата на бте зададени и логично свързани задачи, произтичащи от основната цел. Основополагащи са резултатите за референтни стойности на спермални параметри за здрави доброволци и референтна стойност на ДНК-фрагментационния индекс (DFI) при българската популация, въпреки сравнително неголемия брой изследвани ($n=100$), макар че в тези случаи е желателно доста по-многобройни изследвания. Засега в България липсват публикувани референтни граници за тези показатели и затова авторката ги съотнася към Европейските такива. Определени са праговите стойности на DFI, касаещи както бременност по естествен път, така и АРТ процедури. Използвани са адекватни статистически методи, чрез които са обработени първичните данни. Убедително е доказано диагностичното и прогностично значение на показателя DFI по отношение бременността по естествен път, интраутеринните инсеминации (IUI), ICSI и IVF процедурите с автоложни и донорски гамети, като е изследван голям обем клиничен материал- пациенти, преминали за 5 годишен период в Клиничния център за репродуктивна медицина. Безспорно предимство на този труд е проучване влиянието на различните феномени и процеси като апоптоза, оксидативен стрес и инфекции върху качеството на сперматозоидите, оценено

чрез DFI, както и убедително доказване на взаимосвързката им с увредата на спермалната ДНК.

Получените резултати са обстойно, обективно и критично обсъдени в **Обсъждането**. Там още веднъж се открояват получените резултати и се сравняват с най-съвременните световни резултати в областта, като по този начин се обективизират приносите на тази дисертация.

Основните 6 **изводи** произтичат от получените собствени данни, показващи връзката на DFI с изхода на АРТ процедурата и развитието на бременността. Те са ясно и точно формулирани. Напълно съм съгласна със формулираните от дисертантката приноси.

Оценка на приносите

Приносите са формулирани в 7 точки и коректно отразяват получените резултати. **Оригинален характер** имат следните приноси:

1. За първи път са изработени референтни стойности за стандартните спермални показатели за българската популация мъже спрямо WHO 2010 год.
2. За първи път са установени референтни стойности на DFI за здрави български мъже и постигане на бременност по естествен път.
3. За първи път е установено, че ДНК фрагментацията на сперматозоидите се асоциира с маркер за ранна апоптоза и ТАС, което идентифицира групите пациенти, подходящи за терапия с антиоксиданти.

Приносите с **потвърдителен характер** са:

4. Потвърдена е предиктивната стойност на DFI като самостоятелен показател за бременност и раждане при двойки, планиращи IUI и бременност по естествен път.
5. Потвърдена е критичната роля на DFI по отношение развитието на бременността след ICSI, поради доказаната

възможност увредата на спермалния хроматин да бъде заобиколена чрез този АРТ метод.

6. Чрез проучването на DFI при АРТ е потвърдена ролята на бащиния геном за качеството на ембрионите и успеха на бременността, независимо от начина, по който е реализирана.
7. Проучването утвърждава ролята на DFI като задължителен и надежден фактор, в диагностичния и терапевтичен алгоритъм на АРТ, с цел повишаване на успеваемостта на АРТ процедурите.

Критични бележки и препоръки към дисертационния труд:

Критични бележки от принципен характер, свързани със замисъла на дисертационния труд, определяните показатели, използваните методи и получените резултати и научни приноси нямам. Дисертантката се е съобразила в голяма степен със предварителните ми препоръки, предложени на аprobацията. Бих препоръчала публикуване като монография, например, за стане достояние на по- широк кръг специалисти, които работят в областта на репродуктивното здраве и патологии.

За мое съжаление не познавам лично д-р Виолета Рилчева като личност и специалист, но от представената ми научна автобиография, публикациите и в международни и български научни списания и участия в конгреси смятам, че се касае за стабилно изграден лекар, специалист във вътрешната медицина и репродуктивната андрология. От 2008 г работи в МЦ “КИРМ”, андрологична лаборатория. В периода 2010 – 2015 г д-р Рилчева е докторантка по имунология на самостоятелна подготовка към Катедрата по клинична лаборатория, клинична имунология и алергология на МУ-Плевен. Смятам, че творческата среда и високо професионално ниво на специалистите в това звено под вещото ръководство на доц. д-р Е. Конова са сериозна предпоставка и стимул за разработването на тази стойностна дисертация. .

Научната продукция на дисертантката е впечатляваща. Във връзка с дисертационния труд д-р Славчева е представила 3 публикации в български и 6 статии в реферирани международни списания с общ Импакт фактор 16.612.

Работила е в 5 научни грантови проекта. Представени са данни за 18 нейни участия с доклади и презентации в международни и български научни форуми, което говори за значителната и представителност сред специалистите по репродуктивно здраве.

Заклучение:

Оценявайки по достойнство дисертационния труд – неговата актуалност, използваните съвременни методи, получените резултати и приносите, както и професионалните и изследователски умения на дисертантката напълно убедено гласувам положително и предлагам на Научното жури за защита на дисертационния труд също да гласува положително за присъждане на образователната и научна степен “Доктор” на д-р Виолета Рилчева Славчева.

04. 11. 2015 г.

Изготвила становището:

Проф. Д-р Искра Алтънкова, дмн

