

До: Председателя на Научното жури,  
определено със Заповед  
2124 /07.10.2015 на Ректора  
на МУ - Плевен

## СТ А Н О В И Щ Е

от доц. д-р Емилияна Конова, д.м.,  
Ръководител Център по репродуктивно здраве при МУ – Плевен,  
член на Научното жури

**Относно:** дисертационен труд за придобиване на образователна и научна степен  
“Доктор” по научна специалност „Имунология” с шифър 01.06.23

Автор на дисертационния труд: д-р Виолета Рилчева Славчева

Научен ръководител – доц. д-р Емилияна Конова, д.м.

Тема на дисертационния труд: “Проучване влиянието на ДНК-фрагментационния индекс на сперматозоидите върху изхода на процедурите по асистирана репродукция”

Актуалност на разработвания в дисертацията проблем:

Дисертационният труд на д-р Виолета Рилчева Славчева на тема: “Проучване влиянието на ДНК-фрагментационния индекс на сперматозоидите върху изхода на

процедурите по асистирана репродукция” касае актуална тема от репродуктивната имунология. Увеличаването на стерилитета и инфертилитета през последните години предостави нови предизвикателства пред репродуктивната имунология. Наред с добре проучената патология в много направления при жената, се налага тенденция за увеличаване процента на стерилитет при мъжа или т.нар. „мъжки фактор за стерилитет“. Друга съвременна характеристика на репродуктивната патология е намаляването на стерилитета по причина трансмисивни инфекции и увеличаване на имунологичната патология. Създаването и проучването на нови методи с диагностично и прогностично значение имат приложение както при изследване проблемите при естествено зачеване, така и при все по-често прилаганите техники по асистирана репродукция (АРТ).

Преставеният научен труд е проучване върху влиянието на ДНК-фрагментационния индекс на сперматозоиди върху изхода на процедурите по асистирана репродукция и бременността.

Съществуват литературни данни в подкрепа на влиянието на ДНК фрагментацията на сперматозоидите върху предимплантационното и постимплантационното ембрионално развитие. Липсата на публикувани, статистически валидирани, клинични проучвания на стерилитета при големи групи пациенти, прави клиничното приложение на тези данни изключително трудно. Това налага детайлно изучаване на корелацията между фрагментацията на спермалната ДНК и оплождането, ембрионалното развитие, имплантацията и бременността след конвенционалната IVF, IVF с ICSI, IUI и бременност по естествен път.

Литературните източници, свързани с представения труд, са изложени в Литературния обзор (68 стр.). Проучени са данните от 408 литературни източника, описвайки подробно биологичните причини, водещи до фрагментация на спермалната ДНК, сравнени са различните методи за изследване интегритета на спермалния хроматин (COMET анализ, TUNEL анализ, SCD, SCSA). Представени са данни от клинични проучвания, касаещи влиянието на ДНК-фрагментационния индекс и изхода на процедури по асистирана репродукция. Във връзка с литературния обзор е изведена и целта на дисертационния труд.

Целта на дисертационния труд е формулирана ясно и конкретно – да се проучи влиянието на фрагментацията на спермална ДНК върху изхода на процедурите по асистирана репродукция с цел подобряване на диагностичния подход и терапевтичното поведение при мъже, участващи в АРТ.

За постигане на така формулираната цел, д-р Рилчева си поставя шест основни задачи, при разработването на които са представени данни от 8 групи пациенти и различни методи на изследване, а именно: спермален анализ, ДНК-фрагментационен тест (DNA Integrity test), изследване на маркери за ранна апоптоза чрез оцветяване с Annexin V, изследване на тотален антиоксидантен капацитет (ТАС) на сперматозоиди чрез луминометрия (20 стр.). Обработката на данните е осъществена със статистическия софтуер Statgraphics plus version 2.1. Данните обхващат всички методи на асистирана репродукция (интраутеринна инсеминация, ICSI процедура), както и данни за бременности по естествен път.

Собствените резултати (33 стр.) следват изпълнението на поставените 6 задачи и целта на дисертационния труд. Представените резултати са статистически достоверни и са онагледени с 28 таблици и 11 фигури. Структурирани са в отделни раздели, както следва:

- Определяне на референтни стойности на спермалните показатели (концентрация, подвижност, морфология на сперматозоидите и TZI) и ДНК-фрагментационен индекс за българската популация, спрямо нормите на СЗО по отношение бремеността по естествен път

- Проучване влиянието на ранна апоптоза на сперматозоидите, оксидативен стрес, урогенитални инфекции, криоконсервация върху ДНК-фрагментационния индекс на сперматозоидите.

- Проучване влиянието на ДНК-фрагментацията на сперматозоидите по отношение изхода на бременността след АРТ процедури, при автоложна ICSI процедура, ICSI процедури с донорски яйцеклетки, след интраутеринна инсеминация (IUI) с автоложни и донорски сперматозоиди.

В глава Обсъждане (13 стр.) са дискутирани подробно всички получени резултати и е търсено позоваване и сравнение с данни от проучвания на проблема от други изследователи. Докторантката е представила обсъждането структурирано по отделни проблеми. Очертан е извода, че рутинното прилагане на тестовете за оценка интегритета на спермалната ДНК в репродуктивните центрове е от ключово значение за успеха на АРТ процедурите, развитието на бремеността след тях, профилактиката на спонтанните аборти, както и за здравето на децата, родени след АРТ.

Дисертационният труд завършва с 6 извода и 8 приноса с оригинален и потвърдителен характер. Приносите на дисертационният труд са следните:

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 изработени 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 е асоциирана с маркер за ранна апоптоза и TAC, което идентифицира групите пациенти, подходящи за терапия с антиоксиданти.
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 бремеността 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 затвърждава ролята на DFI като задължителен и надежден фактор, в диагностичния и терапевтичен алгоритъм на АРТ, с цел повишаване на успеваемостта на процедурите.
8. Повишаване успеваемостта на АРТ процедурите в клиника по асистирана репродукция, чрез рутинното прилагане на ДНК-фрагментационния индекс на сперматозоиди като диагностичен критерий при селекция на пациентите.

Авторефератът отговаря на изискванията на Закона за развитието на академичния състав на Република България и правилника за приложението му в МУ –Плевен.

Заклучение: Давам положително становище за дисертационния труд на д-р Виолета Рилчева и считам, че той има теоретично и клинично значение за репродуктивната медицина. Докторантката е изпълнила изискванията по отношение на необходимия брой публикации по темата на дисертацията. Представени са 9 свързани с труда публикации и участие в 19 научни форума. В 7 от публикациите докторантката е първи автор; 6 са в чуждестранни издания с импакт фактор и 3 публикации са в български издания. От научните съобщения 1 е в чужд научен форум, 7 – в български с международно участие и 11 в национални симпозиуми. Част от публикациите са цитирани в списания с импакт фактор. Д-р Рилчева е положила задължителните за докторанта изпити, посещавала е квалификационни курсове в страната и в чужбина

Считам, че изпълнението на дисертационният труд на докторантката д-р Виолета Рилчева Славчева отговаря на изискванията за придобиване на образователната и научна степен „доктор по имунология”.

02.11.2015 г.

A handwritten signature in blue ink, consisting of a stylized, cursive letter 'S' followed by a long horizontal stroke that curves upwards at the end.