

СТАНОВИЩЕ

върху 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, дм

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

Член на научното жури: доц. Мария Иванова Стаменова, дб, според Заповед №2124 от 07.10.2015 г. на Ректора на МУ - Плевен

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”** е посветен на важен за фундаменталната и клинична медицина проблем - фрагментацията на спермална ДНК и ролята ѝ в мъжкото безплодие, както и значението на индекса за нейното отчитане (DFI) за успешния изход при асистираните репродуктивни технологии. В последните десетилетия се доказва, че в около 50% от случаите на безплодни брачни двойки, проблемът е мъжкия фактор. Причините за това може да са от най-различно естество (начин на живот, злоупотреба с алкохол и тютюнопушене, токсична среда, и др) и водят до отклоненията в спермалните параметри. Независимо от интензивните изследвания за преодоляването им чрез прилагане на класически и съвременни подходи като интраутеринна инсеминация (IUI), ин витро оплождане (IVF), интрацитоплазменото инжектиране на сперматозоиди (ICSI) и др. при асистираните репродуктивни техники, все още около 30% от инфертилните мъже са с диагноза идиопатично безплодие. Установено е, че ДНК фрагментацията на сперматозоидите може да се окаже критичен фактор за безплодие, повлиявайки предимплантационното и постимплантационното ембрионално развитие при естествена бременност, както и изхода от ин витро процедурите. Това определя ДНК фрагментационния анализ като един надежден подход за оценка вероятността

за настъпване на оплождане, качеството на ембрионите, имплантацията и развитието на бременността при пациенти, извършващи АРТ процедури.

Прегледът на свързаните с темата на дисертационния труд литературни източници е представен в **Литературния обзор (68 стр.)**, в който докторантката представя много детайлно и задълбочено състоянието на проблема. Тя е анализирала данните от 408 литературни източника, описвайки подробно структурирането на сперматозоидния хроматин по време на сперматогенеза, различните видове причини водещи до фрагментация на сперматозоидната ДНК, репарацията на фрагментираната ДНК през отделните етапи на ембриогенеза. Значителен обем от обзора е отделен на прогностичните маркери за успех на АРТ процедурите, където са разгледани всички съвременни тестове за оценка интегритета на спермалния хроматин COMET анализ, TUNEL анализ, SCD, SCSA. В последната част на обзора е разгледана връзката между състоянието на спермалния хроматин и резултатите от асистираните репродуктивни технологии. Подчертавайки противоречивия характер на данните относно клиничната значимост на увредата на спермалната ДНК и практическата необходимост от подобряване на диагностичния и терапевтичен алгоритъм при асистираните репродуктивни технологии, авторката определя целта на дисертационния труд.

Целта на дисертацията е формулирала ясно и конкретно – да се направи 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.

За реализиране на поставената цел д-р Славчева си поставя шест основни задачи, разработването на които включва изследвания с приложение на класически (спермален анализ, замразяване и размразяване на сперматозоиди, вътрематочна инсеминация (IUI)) и съвременни (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 луцинометрия,

IVF и ICSI) **методи (20 стр.)**. Обработката на данните е осъществена със статистическия пакет Statgraphics plus version 2.1.

В следващия раздел са представени собствените **резултати (33 стр.)**, които са илюстрирани с 28 таблици и 11 фигури. Представянето на резултатите следва логиката на поставените задачи и по-съществените от тях, биха могли да се резюмират със следните няколко точки:

- Определени са референтните стойности на спермалните показатели (концентрация и подвижност на сперматозоидите, морфология и тератозооспермичен индекс) за Българската популация, спрямо нормите на СЗО.
- Определени са референтни стойности за ДНК-фрагментационен индекс и е проучено влиянието на ДНК-фрагментационния индекс на сперматозоидите върху изхода на ICSI процедурите.
- Проучено е влиянието на редица патогенетични фактори върху ДНК-фрагментацията на сперматозоидите като: ранна апоптоза на сперматозоидите, оксидативен стрес, урогенитални инфекции, криоконсервация.
- Представени са резултати за предсказваща стойност на ДНК-фрагментационния индекс по отношение изхода на бременността след АРТ процедури, при различни случаи: след автоложна ICSI процедура, след ICSI процедури с донорски яйцеклетки, след интраутеринна инсеминация (IUI).

Всички данни от проведените проучвания са обработени за статистическа достоверност.

В раздел **„Обсъждане” (13 стр.)** д-р Славчева дискутира получените резултати задълбочено в контекста на публикуваните данни за мъжката репродуктивна физиология от други изследователи. Докторантката е дала обяснение и изказала предположения за всеки получен резултат, правейки опит да хвърли светлина върху недостатъчно проучените механизми в патогенезата и патофизиологията на безплодието при мъжа. Съпоставяйки своите проучвания с категоризацията на процедурите за извършване на семенен анализ по СЗО, тя определя ДНК-фрагментационният тест и тестовете за изследване на оксидативен

стрес и апоптоза като изследователски тестове. Но анализирайки получените резултати от своите проучая тя счита, че подобни проучвания, както и рутинното въвеждане на DFI тестове в клиниките по репродуктивна медицина са изключително важни за успеха на АРТ процедурите и реализираните от тях бременности, както и за здравето на деца, родени след АРТ.

Дисертационният труд завършва с **6 извода**, които очертават както потвърдителните, така и оригиналните данни, получени в хода на проучването и **8 приноса**, сочещи значението на разработения дисертационен труд за клиничната практика при диагностиката и прогностиката в лечението на мъжкото безплодие.

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

Заключение. Оценявам положително предоставения ми за становище труд, реализиран като задочна докторантура, който има не само теоретично, но и приложно значение. Докторантката е изпълнила изискванията по отношение на необходимия брой публикации по темата на дисертацията. Резултатите от дисертационния труд са намерили израз в 9 публикации и 19 научни форума. В 7 от публикациите докторантката е първи автор; 6 от публикациите са в чуждестранни списания с импакт фактор; 3 са в български издания. От научните съобщения 1 е в чужд научен форум, 7 – в български с международно участие и 11 в национални срещи. Част от публикациите са цитирани в списания с импакт фактор. Д-р Славчева е положила с отличен успех задължителните за докторанта изпити. Преминала е курсове за квалификация в България (2 бр.) и чужбина (9 бр). Овладеяла е съвременни техники за анализ, изпълнила ги е прецизно и представя убедително получените резултати като ги анализира умело. Считаю, че изпълнението на дисертационния 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.

Доц. М. Стаменова, дб

