

## **РЕЦЕНЗИЯ**

от доц. Галина Алексиева Янева, д.б.

вътрешен член на Научното жури в професионалното направление 4.3

Биологически науки на дисертационния труд със заглавие:

**„Човешките овоцити при асистирана репродукция -  
систематизация на факторите, влияещи върху  
качеството, изработване на методика за оценка и анализ  
на техники за подобряване на оплождането”**

на **Ирена Цветанова Антонова**, докторант в свободна форма на обучение в  
Катедрата по биология, Факултет по фармация, Медицински университет  
„Проф. д-р Параскев Стоянов“-Варна

за присъждане на образователната и научна степен „Доктор“ по докторската  
програма „Медицинска биология“, област на висшето образование 4.  
Природни науки, математика и информатика и професионално направление  
4.3 Биологически науки.

### **Научни ръководители:**

1. Проф. биол. Добри Лазаров Иванов, д.б.
2. Доц. д-р Мария Величкова Юнакова, д.м

### **1. Процедура по защитата**

Настоящият дисертационен труд е допуснат до публична защита със  
Заповед № Р-109-148 на Ректора на Медицинския университет „Проф. д-р

Параскев Стоянов“-Варна въз основа на доклад с входящ № 102-999/05.04.2024 г. от доц. биол. Галина Алексиева Янева, д.б., ръководител на Катедрата по биология, с решение по протокол № 74/09.04.2024 г. на Факултетния съвет и доклад с входящ № 108-347/01.04.2024 г. от проф. д-р Петко Пенков Маринов, д.м., Декан на Факултета по фармация на Медицинския университет „Проф. д-р Параскев Стоянов“-Варна на основание на чл. 24, ал. 6 и чл. 30, ал. 3 от ППЗРАСРБ, чл. 68, ал. 1 от Правилника за развитието на академичния състав в Медицинския университет „Проф. д-р Параскев Стоянов“-Варна.

## **2. Представяне на докторанта**

Ирена Цветанова Антонова е родена на 30.10.1977 г. в гр. Монтана. Завършва с отличен успех средното си образование в Природо-математическата гимназия „Св. Климент Охридски“ в гр. Монтана в паралелка с профил „Биология“. Продължава своето образование по специалността „Биология“ на Пловдивския университет „Паисий Хилендарски“. През 2001 г. придобива магистърска степен по програмата „Микробиология и Генетика“. Своя професионален път като биолог-ембриолог започва в САГБАЛ „Д-р Щерев“ през 2005 г. първоначално в андрологична лаборатория, а от 2007 г. е неизменна част от ембриологичния екип на болницата. Като част от своето развитие и тясно специализиране през 2011 г. придобива международен сертификат за клиничен ембриолог след успешно положени сертификационни тестове към European Society of Human Reproduction and Embryology (ESHRE). През 2023 г. повторно полага изпит и повишава своята компетенция в старши клиничен ембриолог. Ежегодно поддържа своя сертификат по програмата Continuing Professional Development (CPD) и покрива всички извиквани кредити в 3 направления

(образователно, научно и професионално), чрез участия в конгреси с постери или устни презентации, посещаване на семинари и курсове, публикуване на статии и извършване на активна лабораторна практика. От 2012 г. е част от Европейския IVF-мониторинг към ESHRE като представител на България за предоставяне на данни относно всички дейности, свързани с асистираната репродукция в страната. Именно обработката и анализът на данните за български пациентки служат като отправна точка за по-нататъшните изследвания, залегнали в настоящия дисертационен труд. От 2023 г. вследствие на дългогодишното активно сътрудничество към Европейския IVF-мониторинг е поканена да участва в съвместен проект на ESHRE и Европейската комисия, целящ обединена софтуерна дигитализация на клиниките по асистирана репродукция в ЕС.

Автор е на 24 научни публикации, 7 постерни презентации и 10 участия с устна презентация на конгреси, семинари и форуми.

### **3. Технически данни за дисертационния труд**

Дисертационният труд е написан на 170 стандартни страници, като са спазени общоприетите изисквания за оформление. Работата следва хронологична последователност и е структурирана в 10 отделни глави: въведение - 2 стр., литературен обзор - 42 стр., цели и задачи - 2 стр., материали и методи - 24 стр., резултати и обсъждане - 78 стр., заключение - 2 стр., изводи - 2 стр., приноси - 2 стр., публикации и научни прояви - 2 стр. и библиография - 29 стр. Трудът е онагледен с 64 фигури и 33 таблици. Проучването е одобрено от Комисията по етика на научните изследвания (КЕНИ) към Медицинския университет „Проф. д-р Параскев Стоянов“-Варна с протокол № 128/02.03.2023 г.



#### **4. Актуалност на темата**

Асистираната репродукция е сравнително нов, но изключително динамично развиващ се клон на медицината и биологията. По последни данни между 5% и 15% от населението на различните региони в света страда от проблеми, свързани с инфертилитета, и има нужда от медицинско съдействие и лечение чрез ин витро процедури, вътрематочни инсеминации, предимплантационен генетичен скрининг, донорство на гамети или ембриони и репродуктивна хирургия. За да отговори на все по-нарастващата обществена нужда от терапии с цел постигане на бременност, асистираните репродуктивни технологии (АРТ) са в процес на непрестанно развитие и прогрес, както и на активна научно-изследователска дейност. Въпреки сериозния тласък в последните години, по данни от Европейския IVF-мониторинг успеваемостта от ин витро процедурите през последното десетилетие се намира в плато. Тази тенденция е характерна и за българските пациентки и процентът на постигнатите бременности е в синхрон с общоевропейските резултати. Като основна причина за това може да се изтъкнат тенденциите за отлагането на реализиране на бременност в семейното планиране, характерно за развитите икономически страни. Този процес е непрекъснат и едностранен и всяка година средната възраст на пациентите, лекуващи се чрез методите на асистирана репродукция, се увеличава. Напредналата репродуктивна възраст при жените категорично се асоциира с понижен репродуктивен капацитет, яйчниково остаряване и висок процент на анеуплоидните яйцеклетки.

В резонанс с този актуален проблем, дисертационния труд на Ирена Антонова представлява задълбочено изследване върху основните фактори, които могат да повлияят значително качеството и потенциала на яйцеклетките на българските пациентки, лекуващи се чрез асистирана

репродукция. Разработена е ефективна оценъчна система с висока предиктивна стойност за капацитета на овоцитите и са изследвани допълнителни методи извън стандартното лечение, с които могат да се оптимизират крайните резултати.

## **5. Литературен обзор на дисертационния труд**

Литературният обзор представлява задълбочен анализ на ролята на човешките овоцити в асистираната репродукция. В първата част е проследено в исторически план развитието на науката за човешките овоцити от първоначалните микроскопски наблюдения през XIX век до постиженията и техниките в съвременната ембриологична лаборатория. Във втората част е направено обширно изследване на всички фактори, които имат потенциално отношение към качеството, оплодителния и имплантационен потенциал на яйцеклетките. Въз основа на щателното изследване на литературните източници по темата са формулирани 2 от разделите в дисертационния труд - анализ на влиянието на най-често срещаните фактори върху овоцитното качество на български пациенти, както и екстраполирането на всички фактори, за които има публикувани данни за влияние върху потенциала на яйцеклетките в удобен за използване табличен вид, какъвто липсва до този момент. В синхрон с все по-активно навлизания във всички сфери на живота и най-вече в медицината изкуствен интелект, е използван премиум продукт ChatGPT 4 (Open AI) с цел генериране на изцяло нова систематизация на факторите, имащи отношение към потенциала на овоцитите. В третата част на обзора са разгледани публикуваните в научната литература системи за оценка на яйцеклетките. Подчертано е, че въпреки че повечето от тях са разработени и предложени преди повече от 15 години, нито една не е успяла да се наложи в ежедневната практика. Публикуваното от ESHRE ръководство



за добра лабораторна практика препоръчва качеството на яйцеклетките да се документира по време на процедурата по оплождане. В резултат на тези препоръки е формулиран един от разделите на настоящия труд - изработване на ефективна и лесно приложима система за оценка на яйцеклетките. В четвъртата част на литературния обзор се прави анализ на допълнителните техники, които могат да се приложат върху овоцитите в лабораторни условия с цел подобряване на техния оплодителен и имплантационен потенциал. Поради факта, че ембриологичната лаборатория на САГБАЛ „Д-р Щерев“ е оборудвана с най-съвременна техника, липсваща в други български лаборатории, беше възможно да се определи и реализира четвъртият раздел от дисертационния труд и да се изследва резултатът от прилагането на допълнителни методики върху яйцеклетките в хода на тяхното оплождане.

## **6. Същност на дисертационния труд**

Проучването на дисертанта Ирена Антонова има ясна цел и добре формулирани 7 задачи, обединени в 4 основни раздела. В изследването са включени 9816 пациентки, преминали през овариална стимулация и фоликуларна пункция, в резултат на която са добити общо 67187 яйцеклетки. Големият брой на изследваните единици е с изключителна репрезентативна стойност и доказва високото качество на представения дисертационен труд. В експерименталната част е направен анализ на 4 пациент-специфични фактора върху броя, зрелостта, оплодителния и имплантационен потенциал на яйцеклетките: възраст, индекс на телесна маса (ИТМ), тютюнопушене и серумни нива на фоликуло-стимулиращия хормон. Същите параметри са изследвани спрямо влиянието на две често срещани заболявания сред пациентите, лекуващи се с цел бременност - ендометриоза и тазово-възпалителна болест, както и на два лабораторни фактора - ICSI и използване

на криоконсервирани овоцити за целите на АРТ. Направен е обстоен интегративен анализ на литературните източници и установените фактори на влияние върху овоцитното качество са оформени в графичен изглед. Предложено е допълнение към съществуващата класификация на факторите, като тези с вътрешно въздействие са подразделени на такива с индиректно (до фоликулярната пункция) и директно (върху самата яйцеклетка) въздействие. В резултат от насочената работа с изкуствен интелект е генерирана изцяло нова класификация на факторите, разделени в 9 категории за разлика от класическата, в която са структурирани два основни раздела. Разработена е и е предложена изцяло нова система за оценка на яйцеклетки OVOSCORE, за която е доказана високата ѝ прогностична стойност по отношение на резултатите от асистиранията репродукция. Направен е анализ на ефективността на две допълнителни методики за оптимизиране на резултатите при ин витро оплождане - асистирания активация с калциев йонофор и визуализация на делителното вретено чрез поляризационна микроскопия. Статистическите методи са правилно използвани и детайлно интерпретирани.

## **7. Оценка на резултатите и изводите от дисертационния труд**

В дисертационния труд са представени многобройни данни, които са анализирани и обобщени в правилен планов порядък в 4 основни раздела. Получените резултати по отношение на изследваните 8 фактора подчертават водещата роля на възрастта, като е открита достоверна зависимост при резултатите спрямо всяка една от изследваните възрастови групи. Серумните нива на фоликуло-стимулиращия хормон са фактор с влияние върху овоцитната компетентност, като е установена референтна стойност  $>12$  IU/L, спрямо която се отчитат достоверно по-ниски резултати в изследваните



параметри. Ендометриозата е заболяване, което оказва отражение върху добива на яйцеклетки. Установена е негативна корелация спрямо повишените стойности на ИТМ и процента на имплантациите. В раздел 2 е предложен метод за управление на факторите, имащи отношение към компетентността на овоцитите посредством представянето им в табличен вид, удобен за използване от медицинските специалисти. Включена е работа с изкуствен интелект като част от модерните технологии, отчетена е тенденцията за все по-широкото му навлизане в медицинската практика и е открит огромният потенциал, който разкрива.

В раздел 3 е представена изцяло нова авторска система за морфофизиологична оценка на яйцеклетките, която е неинвазивна и лесна за приложение. Изведените резултати демонстрират висока прогностична стойност, като са отчетени положителни корелационни зависимости между качеството на яйцеклетките и тяхната компетентност. Подчертана е практическата и информативна насоченост на системата OVOSCORE като инструмент в помощ на репродуктивните специалисти за изготвяне на последваща стратегия за лечение на пациентки с предхождащи неуспехи.

В раздел 4 резултатите от прилагането на допълнителни методики показват неубедителни данни за ползата от визуализация на делителното вретено при жените в напреднала репродуктивна възраст. По отношение на третирането на овоцитите с калциев йонофор категорично се постигат по-оптимално оплождане и имплантация в случаи с доказана индикация за приложение.

Дисертационният труд завършва с 11 добре формулирани научни приноса, като е подчертан оригиналният характер при 5 от тях.

## **8. Научна и публикационна активност**



Подготовката, събирането на научни материали и данни, както и тяхното научно презентирание започва повече от десетилетие, преди цялата информация да бъде събрана, обобщена и анализирана в настоящия дисертационен труд. Първоначални данни за физиологичните прояви на яйцеклетките са описани и приети като резюме на 27. Конгрес на ESHRE, където тогавашният председател проф. Кристина Магли дава положителна оценка за оригиналността на изследването и насърчава по-нататъшната работа по темата. Концепцията за системата OVOSCORE е представена на 2 международни конгреса с позитивна обратна връзка от делегатите.

В рамките на докторантурата са публикувани 9 статии, като 3 от тях са в индексирани списания и 6 - в български издания с научно рецензиране. Данните, анализирани в настоящия дисертационен труд, са представени от автора под формата на 3 презентации на международни и национални конгреси и едно постерно участие.

## **9. Заключение**

В заключение давам пред членовете на Научното жури своята положителна оценка за качествата на дисертацията за присъждане на образователна и научна степен „доктор“ по докторската програма „Медицинска биология“ на докторантката Ирена Цветанова Антонова.

06.06.2024 г.

доц. Галина Алексиева Янева, д.б.

Заличено на основание чл. 5,  
§1, б. „В“ от Регламент (ЕС)  
2016/679