

СТАНОВИЩЕ

от доц. Таня Владимирова Милачич, дб
Институт по биология и имунология на размножаването „Акад. К. Братанов“
Българска Академия на Науките,
Секция: Репродуктивни биотехнологии и криобиология на гаметите
относно

Дисертационният труд е за присъждане на образователната и научна степен „Доктор“ по Докторска програма: “Медицинска биология”, Област на висше образование 4. Природни науки, Математика и Информатика, Професионално направление 4.3. Биологически науки

Ирена Цветанова Антонова,

Докторант към Катедра Биология, Факултет по Фармация,
Медицински Университет „Проф. Д-р Параскев Стоянов“, гр. Варна,
с научни ръководители

Проф. Добри Лазаров Иванов, д.б. и Доц. д-р Мария Величкова Юнакова, д.м.

Тема на дисертационния труд:

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

Основание за изготвяне на становището: Със Заповед № Р-109-148/12.04.2024 г. и на основание на Протокол №1/17.04.2024 г. съм определена да участвам със становище по защитата на Ирена Антонова.

1. Актуалност на проблема:

В литературния обзор е засегнат така актуалният въпрос за стерилитета като важен медико-биологичен и социален проблем. За изминалите повече четиридесет години, броят родените деца с помощта на асистиращи репродуктивни технологии нараства бързо и в някои държави достига до над 5% от общия брой новородени на годишна база. В последните години, прогресивното развитие на медицината наложи индивидуалният подход като метод за лечение на двойките със стерилитет. Персонализираната медицина предполага прилагане на разнообразни методи и техники за лечение в зависимост от конкретната причина за безплодието. Най-широко поле за разработване и прилагане на тези допълнителни методики се открива в биологичната част от ин витро цикъла, където различни техники имат за цел да селектират по-добрите сперматозоиди и яйцеклетки с цел подобряване на оплодителна им способност, както и за повишаване на имплантационния потенциал на ембрионите с цел постигането на здрава и развиваща се бременност. При сперматозоидите се прилагат различни методи, които имат за задача селекция на такива с възможно най-оптимална морфология, най-нисък процент фрагментирана ДНК и най-добра

подвижност. За предимплантационните ембриони са разработени множество хранителни среди, специализирана апаратура за наблюдение и подбор, тестове за генетичен анализ и други. Доста по-ограничени са възможностите при добитите от една ин витро процедура яйцеклетки. Причината е ограниченият им брой, доста често са не повече от десетина, за разлика от милионите сперматозоиди в една семенна проба. Именно повишаващата се средна възраст на жените, търсещи лечение чрез асистирана репродукция, се очертава като основен лимитиращ фактор и причина за спад в процента на постигнатите живи раждания в последните години. Ето защо подобряването на оценката на женските гамети е голямо предизвикателство в развитието на съвременната репродуктивна медицина и ембриология, което е и основният и актуален фокус в настоящата дисертация.

2. Формулиране на целта и задачите:

Формулирана е ясно целта на дисертационния труд, а именно да се направи обстоен анализ на акуратността на факторите, влияещи върху качеството и оплодителния потенциал на човешките яйцеклетки и към нея са поставени и съответните акуратно формулирани задачи, между които са да се проследи влиянието на пациент-специфични фактори върху оплодителния потенциал на яйцеклетките: възраст, индекс на телесна маса, тютюнопушене, серумни нива на фоликуло-стимулиращ хормон, както и влиянието на някои заболявания като тазово-възпалителни болест, ендометриоза и др.; да се оформи графична визуализация на тези фактори; да се изследват допълнителни техники за подобряване на оплодителния потенциал; да се предложи и въведе оптимална система за неинвазивна морфологична и функционална оценка на женските гамети с висока прогностична стойност за последващото оплождане, развитие на получените ембриони и имплантация.

3. Структура на дисертацията:

Дисертацията съдържа необходимите структурни единици – увод, литературен обзор, цел и задачи, материали и методи, резултати и обсъждане, заключение, списък с използваната литература, публикации по темата на дисертационния труд, представяне на резултатите на научни форуми и приложения. Трудът е в обем от 170 печатни страници, в които са включени 64 цветни фигури и 33 таблици. Библиографията обхваща 268 литературни източника, от които 19 на кирилица и 249 на латиница, като една голяма част (103) са в последните пет години, което прави дисертацията актуална и съвременна. Публикациите, свързани с дисертационния труд са 9 и 4 са участия в конгреси в България и чужбина чрез постер или устно презентирание.

4. Литературна осведоменост на докторанта:

Докторантът е развил много подробно литературния си обзор, като структура и съдържание. Информацията е поднесена достъпно и разбираемо, което позволява и навлизането в тематиката бързо и лесно. Литературният обзор започва с исторически преглед на човешката яйцеклетка, преминава през хронологията на ин витро процедурата, засягайки гинекологичната и биологичната част на процесите (онагледени с две фигури), продължава през методи за оценка и селекция на яйцеклетките и кумулсно-овоцитните комплекси. Засяга се и темата за генната експресия на гранулозните клетки. Голямо внимание е обърнато на морфологичната оценка на яйцеклетките и отклоненията в техните структури, много добре онагледени с редица фигури. Немалка част заемат и функционалните характеристики на женските гамети, описани са различни типове оценки,

отразено е и влиянието на различни вътрешни и външни фактори върху тях. Проследени са етапите на оплождане, методите за неинвазивна селекция и подобряване на оплодителния потенциал – като поляризационна микроскопия, асистирана овоцитна активация, както и съвременната система за оценка на пронуклеарни зиготи чрез времево видеонаблюдение.

5. Методика и дизайн на научното изследване:

За изпълнението на поставените задачи и постигането на настоящата цел в проучването са включени 9816 пациентки, преминали цикъл по лечение на стерилитет със собствени яйцеклетки чрез контролирана овариална хиперстимулация за целите асистирана репродукция. Добити са общо 67 187 яйцеклетки. Използвани са методи за първичен подбор на пациенти, различни стимулационни протоколи за целите на ин витро процедурите, използвани са два основни принципа на ин витро инсеминиране на женските гамети, създадена и приложена от докторанта е нова морфо-физиологична оценка на яйцеклетките за повишаване на процента оплождане, което е обект на настоящото изследване. На базата на анализи от дисертанта е създаден алгоритъм за управление на горе-упоменатите фактори. Използвани са подходящи и адекватни методи за статистически анализ.

6. Съответствие между цел, резултатите и изводите:

В главата „Резултати”, която е най-подробна, се разглеждат последователно получените резултати от анализите на базите данни, обособени в четири групи, които аналогично следват поставените задачи на дисертационния труд. Спрямо тези резултати са изведени 12 извода, между които някои от по-важните са, че се отчита обратна корелация между средния брой добити яйцеклетки и възрастта на лекуваните пациентки без да има влияние индексът на телесна маса и тютюнопушенето; значение върху броя на получените яйцеклетки оказват серумните нива на FSH и ендометриозата; управлението на факторите е онагледено посредством таблична визуализация, която да насочва консултиращият специалист към индивидуален терапевтичен подход; въведена е нова класификация на факторите, разпределена в 9 отделни категории; асистираната овоцитна активация и визуализацията на делителното вретено при пациентки над 40г. биха могли да са подходящ метод за по-добра оценка или оплождане; от изключителна важност като извод, за мен представлява въведената система за оценка на яйцеклетки OVOSCORE, която достоверно отразява потенциала и компетентността на овоцита.

7. Приноси на дисертационния труд:

Описаните приноси в настоящия труд са общо единадесет и които отразяват акуратно получените резултати. Пет от приносите са с оригинален характер, а шест с приложен. Значимото в дисертация на Ирена Антонова, е че за пръв път в България, на базата на много голям обем от изследвани яйцеклетки, предлага нова система за тяхната оценка OVOSCORE, базирана на морфологичните особености и физиологичните прояви на женските гамети по време на инжектирането им с висока прогностична стойност за оплождането и качество на бъдещите ембриони. Това би могло да е от голяма полза за български пациенти, лекуващи се чрез асистираната репродуктивна медицина.

8. Автореферат:

Изготвен е и автореферат (62 стр.) от дисертанта, съгласно изискванията на Медицински Университет „Проф. Д-р Параскев Стоянов“, гр. Варна, и отразява всички основни резултати, изводи и приноси от дисертационния труд.

9. Критични бележки и препоръки:

Забележките са минимални и незначителни, те имат предимно уточняващ характер: например са използвани доста чуждици, думи като „фертилизация“ вместо „оплождане“ или „предиктивна“ вместо „прогностична“; на места е използван терминът „овоцит“, а на други „ооцитни комплекси“, следва да се уточни кое от двете е по-правилно. На места има повторения, пунктуационни и стилистични грешки. Частта „Съдържание“ в началото би могла да е по-подробно разгърната. Следва да отбележа, че отправените от мен бележки по дисертационния труд са незначителни и в никаква степен не омаловажават неговите достойнства, както и положения труд от страна на докторанта.

10. Лични впечатления от кандидата:

Личните ми впечатления от докторанта са, че умело е разгърнал дисертационния труд и е извел не малко на брой изводи и приноси, които до голяма степен имат приложен характер и биха помогнали в бъдеще на репродуктивните специалисти да постигат по-големи успехи във все по-мощно разпространяващия се стерилитет и увеличаването на репродуктивната възраст на двойките в България.

Заклучение:

С оглед на зададената цел и получените резултати и изводи, намирам дисертационния труд на Ирена Цветанова Антонова за напълно задоволителен и актуален, както по отношение на преодоляване на проблемите свързани с безплодието, така и по отношение на научния характер на настоящата работа.

Представеният дисертационен труд отговаря на изискванията на Закона за развитие на академичния състав в Република България (ЗРАСРБ), Правилника за прилагане на ЗРАСРБ и съответния Правилник на Медицински Университет „Проф. Д-р Параскев Стоянов“, гр. Варна, както и на препоръчителните критерии за придобиване на научни степени и заемане на академични длъжности в Медицински Университет „Проф. Д-р Параскев Стоянов“, гр. Варна, и давам своята ПОЛОЖИТЕЛНА ОЦЕНКА. От гореизложеното, предлагам на почитаемото Научно жури също да гласува положително и да присъди на Ирена Цветанова Антонова с научни ръководители Проф. Добри Лазаров Иванов, д.б. и Доц. д-р Мария Величкова Юнакова, д.м. образователната и научна степен „ДОКТОР“ по Докторска програма: “Медицинска биология”, Професионално направление 4.3. “Биологически науки” и Област на висше образование 4. „Природни науки, математика и информатика“.

02.06.2024г.

Гр. София

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

С уважение:.....
доц. Таня Милачич, дб