

РЕЦЕНЗИЯ

от

Доц. д-р Мария Николаева Симеонова, дм
Катедра по медицинска генетика, МУ-Плевен

на дисертационен труд за присъждане на ОНС “Доктор“, Област на висше образование: 4.
Природни науки, математика и информатика, Професионално направление: 4.3.
Биологически науки, Докторска програма: „Генетика“

Автор: Мария Кирякова Цветкова

Катедра: Медицинска генетика, МУ-Варна

Тема: Цитогенетични находки при пациенти с репродуктивна недостатъчност

Научен ръководител: проф. д-р Людмила Ангелова, дм

Със Заповед № Р-109-84/11.03.2021 г. на Ректора на МУ-Варна, съм избрана за член на Научното жури (НЖ) във връзка с дисертационния труд на Мария Цветкова, а с Решение от 1-то заседание на НЖ (протокол №1 от 15.03.2021 г) съм определена за рецензент.
Декларирам, че нямам конфликт на интереси с авторката на дисертационния труд.

Общо представяне на процедурата и докторанта

Представеният комплект документи и материали е в съответствие с процедурата за придобиване на ОНС „доктор“ в МУ-Варна и Правилника за РАС на Университета.

Рецензията е изготвена въз основа на представен автореферат дисертационен труд. Последният е в обем 138 стандартни страници, 48 фигури, 24 таблици и 2 приложения. Библиографията обхваща 204 литературни източника, като 9 от тях са на кирилица. Авторефератът включва 76 страници, 38 фигури и 23 таблици.

Дисертацията и авторефератът са структурирана по правилата за изготвяне на такъв вид научни трудове. Отделните раздели са балансирани правилно. Прави много добро впечатление, че разделите Резултати и Обсъждане са представени като общ раздел, с което се избягват излишни повторения и по-лесно се възприема логичната последователности и стойност на данните. За това допринася и финалното Обобщение. Доказателственият материал е с отлично качество и свидетелства за високия професионализъм на докторантката. Прочитът на дисертацията оставя цялостно впечатление на завършено, компетентно, задълбочено и грамотно написан научен труд.

Кратки биографични данни за докторанта

Мария Кирякова Цветкова е родена на 11.12.1975 г. в гр. Варна. След завършване на средното си образование през 1994 г., тя последователно изгражда професионалната си кариера на биолог. През 1996 г. придобива специалност Медицински лаборант, през 2003 г.

[Type here]

става бакалавър по Биология, а през 2006 г. – магистър по молекулярна биология и генетика. От 2004 г. работи на длъжност Биолог в лабораторията по медицинска генетика, УМБАЛ Св. Марина, Варна и катедра Медицинска генетика на МУ-Варна. Основните й дейности са диагностична и научно-изследователска. Докторантката има 2 специализации (през 2016г. и 2019 г.) и е участие в 1 научен проект към фонд Наука на МУ-Варна през 2019 г. Тя показва активна, цялостна научна дейност, като съавтор на общо 10 пълнотекстови публикации в реферирани списания – 7 в български и 3 в чуждестранни. Научните й съобщения, с публикувани резюмета, са общо 10, като 4 от тях са в чуждестранни списания с импакт фактор. Всичко до тук свидетелства, че докторантката притежава необходимите знания, умения и компетенции за успешно самостоятелно разработване и завършване на дисертационния й труд.

Актуалност на тематиката

Нарушената репродукция е социално значим проблем в съвременната медицина. Относителният дял на двойките с репродуктивни неудачи (РН), не само в света, но и у нас непрекъснато нараства. Да се открие причината/етиологията на РН е много важно за пациентите и техните семейства, въпреки че това не е лесна задача. Към настоящия момент у нас няма публикувани широко обхватни проучвания за комплексна оценка на хромозомни нарушения и полиморфни варианти чрез високорезолютивни цитогенетични и молекулярно-цитогенетични методи (субтеломерна FISH) при пациенти с РН.

За мен дисертационният труд на Мария Цветкова е актуална и е с принос за нашата страна главно по 2 причини. От една страна, предлага за пръв път у нас, широкомащабно проучване, с комбинирано използване на класическа и молекулярна цитогенетика за оценка на честотата, динамиката на развитие и клиничната значимост на хромозомните нарушения и полиморфизми при български пациенти с репродуктивна недостатъчност. От друга страна, резултатите от проучването дават реална възможност за по-пълноценно генетично консултиране на такива пациенти и техните семейства, с оглед прецизирана репродуктивна прогноза, възможност за асистирана репродукция, необходимост от дородова диагностика и профилактика на настъпила бременност.

Познаване на проблема и целесъобразност на целта и задачите

Обзорът е много обстоен и аналитичен. Разделен е целенасочено на 4 основни раздела, с оглед предвидените етапи на научното проучване. Систематизирането на литературните данни в обзора показва, че докторантката задълбочено познава проблема и може да прави творчески анализ на цитираната литература. Четенето му за мен беше удоволствие, предвид стила на писане на Мария Цветкова и отношението ми към цялостния проблем „РН“. Очевидно е, че в хода на разработване на дисертационния си труд, тя е обогатила и надградила биологичното си образование в сферата на човешката репродуктивна патология и приложението на молекулярно-цитогенетичните методи за изследване. Отлично

[Type here]

впечатление, за научния подход на авторката правят представените самостоятелно - Обобщение на литературния обзор и Работна хипотеза. Именно в тях логично се обосновава целесъобразността на целта и задачите на дисертационния труд.

Цел и задачи

За постигане на научната цел са заложили за решаване 5 основни задачи. Те са обмислени много добре, формулирани са прецизно, конкретно и ясно. Адекватни са на поставената цел.

Методология на изследването

В проучването са включени 1733 пациенти на възраст от 16 до 60 години, изследвани в лабораторията по медицинска генетика на УМБАЛ Св.Марина и катедра Медицинска генетика на МУ-Варна, за период от 16 години (2004-2019). За правилната интерпретация на резултатите е важен подборът и селекцията на контингента. Изследваните пациенти са подбрани и селектирани много прецизно на базата на включващи и изключващи критерии. Разделени са в 3 основни групи: Двойки с инфертилитет; Двойки с 2 и повече спонтанни аборта(СПА) и Двойки с комбинирани РН. На изследваните лица са провеждани 2 вида анализи – конвенционален високорезолютивен дитогенетичен анализ и молекулярно-цитогенетичен, субгеломерен FISH анализ. Използваните биологични материали са клетъчни суспензии, амниотична течност, кожни фибробласти и такива от абортивен материал. Според тяхното приложение, лабораторните методи са разделени на Основни и Верифициращи.

Приложената в дисертационния труд методология е съвременна и позволява постигане на поставената цел и адекватен отговор на задачите. Много компетентно, на точен научен език са представени: постановката на проучването; дизайна с четирите главни методични етапа на изследване; използваните методи, със своите подробно описани алгоритми и протоколи на лабораторни техники; четирите подходящи статистически анализа и модерните софтуерните програми. Безспорно, докторантката показва много добра теоретична и практическа подготовка и професионален опит. Високо оценявам личния труд, който тя е вложила в усвояване и прилагане на трудоемките и капризни високорезолютивни GTG техники, както и на новите молекулярно-цитогенетични методи в научната си разработка.

Резултати и обсъждане

Подкрепям интелигентния подход на докторантката да представи резултатите заедно с тяхното обсъждане в общ раздел. Резултатите са представени последователно така, както логично е следвало самото проучване, в три основни етапа на разработката. Добро впечатление правят обобщенията, които се правят след всеки раздел и подраздел на резултатите. Това потвърждава умението на авторката да обобщава и анализира.

[Type here]

Онагледяването на резултатите е с отлично качество. Фигурите и таблиците са информативни. Включват статистически анализ и не се преповтарят детайлно в текста.

Първият етап е „Обща характеристика на пациентите“. В него е проведена прецизна клинична селекция на базата на разработени за целта критерии. Извършени са предварителни, цялостни изследвания на всички пациенти. Заключителният анализ, по приложения трендов модел на селектираната извадка пациенти показва, че има плавно увеличаване на общия брой на лицата с РН в извадката българска популация, с тенденция за бъдещо покачване. Само при лицата с инфертилитет тенденцията е с отчетливо нарастване; Наблюдава се също увеличаване на общия брой пациенти над 35 г;

Вторият етап на проучването е „Конвенционални цитогенетични изследвания“. Този етап включва 5 големи, важни подетапа за анализ и характеризиране на хромозомните аномалии (ХА): 1. Обща характеристика на ХА; 2. ХА по вид и група РН; 3. Разпределение на структурните ХА според вида/групата на РН; 4. Разпределение на всички ХА според вида РН и 5. Хромозомни полиморфизми.

Конвенционалният цитогенетичен метод е приложен при голям брой пациенти (1733), вградени в 764 семейства и 205 отделни лица с репродуктивни неудачи за периода 2004-2019г. На всички пациенти е проведен анализ на лимфоцити от периферна венозна кръв. Допълнително, по показания, са изследвани амниоцити при 21 лица (осъществили следваща бременност), и фибробласти (кожни или от абортивен материал) - при 22 лица. Тези изследвания отразяват част от завидния опит на Лабораторията по медицинска генетика в УМБАЛ Св. Марина, Варна в прилагане на конвенционалната цитогенетика в различни области на човешката патология. Докторантката е вложила огромен труд и умения, не само в личното участие в лабораторната работа, но и като е описала и систематизирала компетентно големия обем резултати. Тя е направила много подробен, задълбочен, анализ, като е обсъдила и съпоставила умело всички свои данни с тези на други автори в достъпната научна литература. В този процес проличава важната роля на научния ръководител.

Крайната комплексната оценка на ХА при пациентите с РН, показва, че резултатите за хромозомни нарушения и полиморфизми в българските пациенти са съпоставими, сходни с данните на други учени в достъпната литература и потвърждават част от тях. Споделям мнението, че тези резултати потвърждават значението на хромозомните нарушения, като част от причините за неуспешна репродукция в българска популация. Освен това, още веднъж утвърждават мястото и значението на конвенционалния цитогенетичен анализ, като рутинен метод при двойки с РН и като база за надграждане от съвременни молекулярно-генетични диагностични подходи.

Третият етап е „Молекулярно-цитогенетични изследвания за субтеломерни хромозомни преустройства“. По време на този етап, докторантката усвоява и лично провежда анализ със субтеломерна FISH, която позволява по-детайлен анализ и оценка на факторите за РН. Включени са 20 пациента от общо 85 селектирани лица. Те са с комбинирани репродуктивни нарушения, показали нормален кариотип от конвенционалния

[Type here]

цитогенетичен анализ. При тях е установено 1 субтеломерно хромозомно нарушение (5%). Това е по-висок процент от този съобщаван по литературни данни (средно 3,5%). Докторантката обяснява това, като резултат най-вероятно, от тясната селекция на пациентите отговарящи на критериите за включване в този вид анализ.

Съгласна съм с мнението, че молекулярно-цитогенетичният анализ чрез FISH има място за диагностициране на субклетъчно ниво на балансирани преустройства. Разбира се, необходимо е по-широкомащабно бъдещо проучване, за да се изведе статистическа значимост на приложението на метода.

Напълно споделям финална оценка, която прави докторантката, че класическият цитогенетичен анализ в комбинация със субтеломерна FISH, като рутинна част от изследванията на двойките с репродуктивни проблеми, би подобрило процеса на медико-генетичното консултиране, тъй като ще даде възможност за провеждане на по-задълбочен анализ на причините за неуспешната репродукция и ще даде възможност за съставяне на индивидуален план за репродуктивно поведение при тях.

Изводи

Приемам направените изводи и високо оценявам начина по който са представени. Те са добре обмислени и конкретно формулирани на ясен, научен стил. Направени са 5 основни извода с няколко под-извода, отразяващи коректно етапите и подетапите на проучването. Те са точен отговор на поставените задачи.

Приноси.

Приемам напълно приносите и самооценката на докторантката. За мен съществен оригинален принос е, че за пръв път у нас се докладват и анализират данни за динамиката на развитие и ролята на хромозомни аномалии и варианти в български пациенти с репродуктивни нарушения. Получените резултати могат да са база за сравнителни популационни проучвания и планирани действия в областта на медицинското обслужване при пациенти с репродуктивни проблеми.

Много ценни за мен са и приносите с приложен характер, касаещи цялостния подход, алгоритъм на обслужване на семейства с РН - насочване към кабинет за МГК, назначаване и интерпретиране на допълнителните генетични изследвания, изясняване на причините за РН в семейството и съставяне на индивидуален план за репродуктивно поведение.

Публикационна активност, свързана с дисертационния труд

Мария Цветкова е представила 3 публикации в реферирани български списания и 3 научни съобщения, от които 2 от престижни форуми в чужбина. Като брой и качество, научните трудове са достатъчни за ОНС "доктор".

Автореферат

[Type here]

Авторефератът представлява интелигентно представен самостоятелен научен труд и представлява много добър атестат за докторантката. Той е изготвен според изискванията и отразява основните резултати, постигнати в дисертацията.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Дисертационният труд на Мария Цветкова съдържа научни и клинично-приложни резултати, които са принос в българската наука. Дисертацията отговаря на всички изисквания на Закона за развитие на академичния състав в Република България, Правилника за неговото прилагане и Правилника за РАС на МУ - Варна. Докторантката притежава теоретични знания и професионални умения за научната специалност "Генетика". Тя демонстрира качества и възможности за самостоятелно провеждане на задълбочено научно изследване. Поради гореизложеното, убедено давам своята положителна оценка за проведеното дисертационно проучване и предлагам на почитаемото научно жури да присъди образователната и научна степен 'доктор' на Мария Кирякова Цветкова, в докторската програма по Генетика.

15. 04. 2021 г.

Рецензент:

(Доц. д-р Мария Симеонова, дм)

[Type here]