

РЕЦЕНЗИЯ

от проф. д-р Василий Щерев Ишев – пенсионер, Медицински университет - Пловдив

Със Заповед № Р33-2231/09.05.2019 г. на Ректора на Пловдивски университет „Паисий Хилендарски“ съм определен за член на Научно жури по процедура за защита на дисертационен труд за присъждане на образователната и научна степен „доктор“

в област на висше образование: **4. Природни науки, математика и информатика**

професионално направление: **4.3. Биологични науки**

докторска програма: **Клетъчна биология**

Автор: Борислав Петров Матеев – задочен докторант в Пловдивски университет „Паисий Хилендарски“ – Биологичен факултет

Тема: „Разработване на система от биомаркери за определяне на имплантационния прозорец при асистирана репродукция“

Научен ръководител: проф. д-р Балик Маломиров Джамбазов, Пловдивски университет „Паисий Хилендарски“ – Биологичен факултет

1. Общо описание на представените материали

Представеният от Борислав Петров Матеев **дисертационен труд** съдържа научни и научно-приложни резултати, които представляват оригинален принос в науката и **отговаря на всички изисквания** на Закона за развитие на академичния състав в Република България (ЗРАСРБ), Правилника за прилагане на ЗРАСРБ и Правилника на ПУ „Паисий Хилендарски“ за развитие на академичния състав. Комплектът включва следните документи на хартиен и електронен носител:

- молба до Ректора на ПУ за разкриване на процедурата за защита на дисертационен труд;
- автобиография в европейски формат;
- копие от диплома за образователно- квалификационна степен „магистър“;
- заповед за зачисляване в докторантура;
- заповед за отчисляване от докторантура с право на защита;
- заповеди за комисии за провеждане на три изпита от индивидуалния учебен план;
- заповеди за провеждане на изпитите от индивидуалния учебен план;

- протоколи от издържаните изпити;
- протокол от катедрения съвет, за докладване на готовност за откриване на процедурата и с предварително обсъждане на дисертационния труд;
- заповед на Ректора за еднократно разширяване на състава на катедрения съвет;
- протокол на предварителното обсъждане на дисертационния труд от катедрения съвет;
- дисертационен труд;
- автореферат;
- списък на научните публикации по темата на дисертацията;
- копия на три научни публикации по темата на дисертацията;
- декларация за оригиналност и достоверност на приложените документи;
- справка за спазване на специфичните изисквания на съответния факултет;
- сертификат по клинична ембриология от ESHRE;

2. Кратки биографични данни за докторанта

Борислав Петров Матеев има отлична езикова, биологична и медицинска подготовка: учил в Езикова гимназия – Пловдив с профил Немски език и медицина – в Медицински Университет – Виена; бакалавър по Клетъчна биология и магистър по Молекулярна биология - в Пловдивски университет „Паисий Хилендарски“; магистър по Здравен мениджмънт - в Медицински Университет – Пловдив; през 2012 г. е придобил сертификат по клинична ембриология от Европейското общество за Човешка репродукция и Ембриология (ESHRE). От 2014 до 2018 г. е задочен докторант по програма Клетъчна биология в Биологичния факултет на ПУ „Паисий Хилендарски“; От 2011 г. и понастоящем работи като клиничен ембриолог/биолог в Медицински център БОРА – Пловдив. Изпълнил е успешно предвидената образователна и научна програма, свързана с докторантурата.

3. Актуалност на тематиката и целесъобразност на поставените цели и задачи

Оплождане *in vitro* при хора е въведено успешно за първи път през 1977 г. и родените в целия свят чрез прилагането на този метод деца са вече над 7,000,000. В България методът е въведен през 1987 г. и понастоящем има разкрити 40 лаборатории за асистиран репродуктивни технологии, в които годишно се прилагат общо над 4000 *in vitro* процедури.

Въпреки, че в 90% от случаите настъпва оплождане *in vitro*, успешна бременност се постига едва в 30%. Две са основните причини за ниската ефективност: 1/3 от несполуките се дължат на генетично и физиологично непълноценни ембриони, а 2/3 от случаите са свързани с неуспешното имплантиране на бластоциста в ендометриума. Ето защо подобряването на

ефективността на асистираната репродукция изисква все по-детайлно изучаване на предимплантационните и имплантационните процеси. Това прави настоящия дисертационен труд изключително актуален както от научна, така и от научно-приложна гледна точка.

Целта на дисертационния труд е ясно и точно дефинирана: Приложение на определени биомаркери за разработка на модел и алгоритъм в различни процедури за асистирана репродукция, с оглед установяване на времевата рамка на рецептивния период на ендометриума – т.нар. имплантационен прозорец. За постигането ѝ прецизно и изчерпателно са формулирани шест задачи. Поставените цел и задачи са изцяло целесъобразни.

4.Познаване на проблема

Докторантът познава отлично актуалното състояние на проблема и творчески оценява литературния материал. Литературният указател включва 164 литературни източника - 2 на български и 162 на латиница. 53 от литературните източници са от последните 10 години.

Литературният обзор е представен в четири раздела: 1. Фертилитет и безплодие. 2. Ендометриум. 3. Предимплантационно развитие на ембриона. 4. Имплантация.

Компетентно са обсъдени: мъжки и женски фактор за безплодие; стерилитет с неизяснена етиология; структура на ендометриума и роля на функционалния слой; хормонална регулация на менструалния цикъл; развитие на рецептивността на ендометриума и стартиране на периода на имплантационния прозорец. Имплантацията е разгледана като съвкупност от взаимодействия между бластоциста и ендометриума, с участието на медиатори - хормони, цитокини и адхезионни молекули в трите имплантационни етапа - позициониране, адхезия и имплантация. Някои от тези медиатори са разгледани като потенциални биомаркери за рецептивността на ендометриума във всеки от етапите на имплантацията. Обсъдени са предимплантационното развитие на бластоциста, неговото „излюпване“ от zona pellucida, биохимичната комуникация и клетъчните взаимодействия, които инициират имплантационния процес. Коректно са интерпретирани литературните данни за експресията на интегрините $\alpha 1\beta 1$, $\alpha 4\beta 1$, $\alpha n\beta 3$, цитокините IL-1, IL-11, левкемия инхибиращ фактор (LIF), тумор некротичен фактор (TNF), както и динамиката при експресията на прогестероновите рецептори. Литературният обзор сполучливо обосновава целта и задачите на дисертационния труд.

5. Материали и методи

От методологична гледна точка подходът за решаване на поставените цел и задачи е правилен. Дизайнът на проучването е одобрен от Етичната комисия на Медицински център

БОРА, на базата на Стандартна Оперативна Процедура, утвърдена от Изпълнителната Агенция по Трансплантация.

Работната група включва 20 фертилни жени на възраст от 25 до 41 години. Ендометриалният материал за биопсия е взет между осми и единадесети ден на месечния цикъл чрез щадящ аспирационен метод след предварителен ултразвуков преглед, тест за бременност и кръвна проба за изследване на серумното ниво на прогестерона. Втората биопсия е направена между шести и девети ден постовулаторно – в предполагаемия имплантационен прозорец, когато отново е взета кръвна проба за проверка на серумното ниво на прогестерона. Стойностите на прогестерона са определени с анализатор Cobas e 411/Roche Hitachi, с китове за електрохемилюминисцентен анализ. Тъканните проби са анализирани чрез ензимосвързан имуносорбентен анализ (ELISA) като са изследвани концентрациите на alfanubeta3-интегрин и левкемия инхибиращ фактор (LIF). Резултатите са подложени на статистическа обработка и анализ.

Можем да обобщим, че при разработката на дисертационния труд са приложени най-съвременни методи с висока информативна стойност, които позволяват постигането на поставената цел и получаването на адекватен отговор на задачите на дисертационния труд.

6. Характеристика и оценка на дисертационния труд

Дисертационният труд е написан съобразно общоприетия модел и съдържа 97 страници, 26 таблици и 38 фигури. Богатият илюстративен материал онагледява много добре резултатите и има доказателствена стойност.

Представените резултати следват логично и последователно поставените задачи и са подложени на задълбочено и коректно обсъждане. Статистическият анализ на получените резултати е доказателство за тяхната достоверност.

Установеното статистически значимо повишаване нивата левкемия инхибиращия фактор (LIF) и alfanubeta3-интегрин в периода на предполагаемия имплантационен прозорец спрямо периода на нерцептивната фаза, корелира с концентрацията на серумния прогестерон и утвърждава ролята им при бластоцистната имплантация. Това е основанието те да бъдат предложени като биомаркери за установяване на времевата рамка на имплантационния прозорец. Използването на левкемия инхибиращия фактор (LIF) и alfanubeta3-интегрин като биомаркери на имплантационния прозорец би било особено важно и в някои конкретни случаи - при определяне на времето за ембриотрансфер на криоконсервирани ембриони; при стартиране на процедура за *in vitro* оплождане без прилагането на овариална хиперстимулация (т.нар. „спонтанен цикъл“); при жени с многократни неуспешни вътрематочни инсеминации.

Компетентното обсъждане на получените резултати потвърждава отличната теоретична подготовка и аналитичните способности на докторанта.

7. Приноси и значимост на разработката за науката и практиката

Дисертационният труд е задълбочено научно изследване, довело до правилно изведени и точно формулирани изводи. Приносите в дисертационния труд обогатяват медицинската наука и практика в една многолика и обществено значима сфера.

Оригинални научни приноси:

1. Моделиране на алгоритъм за определяне на имплантационния прозорец, съпоставящ данните за серумния прогестерон и динамиката в експресията на левкемия инхибиращия фактор (LIF) и alfanubeta3-интегрин в ендометриални биопсии.
2. Приложение на ELISA за анализ на левкемия инхибиращия фактор (LIF) и alfanubeta3-интегрин в тъканни проби от ендометриални биопсии.
3. Установено наличие на alfanubeta3-интегрин в използвана култивираща среда с прогресираща експресия на 3-ти – 5-ти ден от ембрионалното развитие.

Приноси с потвърдителен характер:

1. Потвърден е динамичния характер на експресия на LIF и alfanubeta3-интегрин в хода на ендометриалния цикъл.
2. Потвърдена е динамичната експресия на LIF и alfanubeta3-интегрин в ембриони.

Научно-приложни приноси:

Корелацията на изследваните биомаркери с хормоналния статус и морфологичните и биохимични показатели на ендометриалната тъкан може да доведе до повишаване на процента на успешните процедури при асистираната репродукция и оптимизиране на съотношението между успеваемост и разходи при прилагането им.

8. Преценка на публикациите по дисертационния труд

Докторантът е представил три съвместни научни статии, на които е първи автор: 1 – публикувана в сп. Репродуктивно здраве, бр. 28, стр. 20-24, 2018 г. и 2 - приети за печат: в сп. Ембриология, бр. 9, 2019 г. и в Научни трудове на СУБ-Пловдив, серия Г-Медицина, фармация и дентална медицина, том XXIII, 2019 г. Статиите съдържат фрагменти от дисертационния труд и са на високо научно ниво. Участвал е с научен доклад, свързан с дисертацията, в V международен конгрес по имунология, 25-28 октомври, Пловдив, България.

9. Лично участие на докторанта

Личното участие на докторанта в разработването на дисертационния труд и формулираните приноси е несъмнено. Дисертационният труд е добре обмислен и прецизно осъществен. Докторантът умело анализира получените резултати в светлината на литературните данни и формулира достоверни изводи, отчитайки възможностите за практическото приложение на установените от него зависимости.

10. Автореферат

Като неразделна част от дисертацията авторефератът отразява в резюмиран вид основните й положения и дава реална представа за проведените изследвания, получените резултати и направените изводи. Оформен е според изискванията и е много добре онагледен.

11. Критични забележки и препоръки

Нямам критични бележки към проведеното изследване и представения комплект материали, свързани с дисертационния труд.

12. Препоръки за бъдещо използване на дисертационните приноси и резултати

Препоръчвам резултатите от дисертационния труд да станат достояние на екипите в централите за асистирана репродукция.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Дисертационният труд потвърждава, че докторантът Борислав Петров Матеев **притежава** задълбочени теоретични знания и професионални умения по научна специалност Клетъчна биология и **демонстрира** качества и умения за самостоятелно провеждане на научно изследване.

Като се основавам на гореизложеното, убедено давам своята **положителна оценка** за проведеното изследване, представено в рецензираните от мен дисертационен труд, автореферат, постигнати резултати и приноси и **предлагам на почитаемото научно жури да присъди образователната и научна степен „доктор“ на Борислав Петров Матеев** в област на висше образование: **4. Природни науки, математика и информатика,** професионално направление: **4.3. Биологични науки,** докторска програма: **Клетъчна биология.**

10.05.2019 г.

РЕЦЕНЗЕНТ:

(проф. д-р Василий Ишев, д.м.)

