

## РЕЦЕНЗИЯ

от доц. Д-р Стоилка Колева Мандаджиева, дм  
доцент в катедра Патологична физиология, Медицински факултет,  
Медицински университет – Пловдив

на дисертационен труд за присъждане на образователната и научна степен „доктор“

**Област на висше образование** 4. Природни науки, математика и информатика

**Професионално направление** 4.3 Биологически науки

**Докторска програма:** Молекулярна биология

**Автор:** д-р Мария Николова Николова - Милова

**Тема:** Оценка на ендометриалната възприемчивост чрез профилиране на генетични и хормонални маркери

**Научни ръководители:** проф. д-р Галина Тенева Яхубян и гл. ас. Младен Маринов Найденов при Пловдивски университет „Паисий Хилендарски“

### 1. Общо описание на представените материали

Със заповед № № РД-21-712/01.04.2024 г. на Ректора на Пловдивския университет „Паисий Хилендарски“ (ПУ) съм определена за член на научното жури за осигуряване на процедура за защита на дисертационен труд на тема „Оценка на ендометриалната възприемчивост чрез профилиране на генетични и хормонални маркери“ за придобиване на образователната и научна степен „доктор“ в област на висше образование 4. Природни науки, математика и информатика, професионално направление 4.3 Биологически науки, докторска програма Молекулярна биология.

Автор на дисертационния труд е д-р Мария Николова Николова – Милова – докторантка в редовна форма на обучение към катедра „Физиология на растенията и молекулярна биология“ с научни ръководители проф. д-р Галина Тенева Яхубян и гл. ас. Младен Маринов Найденов при Пловдивски университет (ПУ) - „Паисий Хилендарски“.

Представеният от докторантката комплект материали на електронен носител е в съответствие с изискванията за придобиване на ОНС „Доктор“ според Закона за развитие на академичния състав в РБ(ЗРАСРБ) и Чл.36 (1) от Правилника за развитие на академичния състав

на ПУ. Представените административни документи са подготвени прецизно и изчерпателно и включват следните документи:

- молба до Ректора на ПУ за разкриване на процедурата за защита на дисертационен труд;
- автобиография в европейски формат;
- протокол от катедрения съвет, свързан с докладване на готовността за откриване на процедурата и с предварително обсъждане на дисертационния труд;
- дисертационен труд;
- автореферат;
- списък на научните публикации по темата на дисертацията;
- копия на научните публикации;
- списък на забелязани цитирания;
- декларация за оригиналност и достоверност на приложените документи;
- справка за спазване на специфичните изисквания на Биологически факултет

Докторантката е приложила 3 броя публикации, 6 участия в научни форуми и 11 цитирания в чуждестранни издания.

## **2. Кратки биографични данни за докторанта**

Д-р Мария Николова Николова – Милова е родена в гр. Пловдив, възпитаник на Английска езикова гимназия, завършена със златен медал за пълно отличие през 1990 г. През 1996 г. придобива образователно-квалификационна степен „Магистър“ с призната професионална квалификация „Магистър-лекар“. През 2005 г. д-р Николова-Милова придобива специалност по Акушерство и гинекология и репродуктивна медицина. От 2018 г. д-р Мария Николова Николова – Милова е редовен докторант в катедрата по „Физиология на растенията и молекулярна биология“ при ПУ.

Д-р Николова-Милова е клиничен лекар с дългогодишен стаж, започнат в АГО на МБАЛ „Св. Пантелеймон“ през 1996 г. След придобиването на специалност д-р Николова е работила в различни лечебни заведения, сред които 4 годишен професионален опит в ин витро Клиника Щерев в София, а в последствие и в създадения от нея Център за Женско здраве. Клиничната практика на д-р Николова включва непрекъсната работа, както в амбулатория с проследяване на бременност, така и в болнична среда с извършване на гинекологични операции и водене на раждания.

Многобройните квалификационни курсове и продължаващо обучение по ултразвукова диагностика в акушерството и гинекологията, пренаталната диагностика, нови репродуктивни технологии, гинекологична ендокринология и мн. други разкриват един утвърден и целенасочен специалист.

Д-р Николова-Милова владее перфектно английски език и много добре руски език.

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

Актуалността на разработвания в дисертационния труд проблем в научно и научно-приложно отношение се определя от нарастващото прилагане на ин витро процедури, при които като проблем възниква неуспешната ендометриална имплантация. Състоянието е описано в литературата като повтаряща се неуспешна имплантация и така нарушената възприемчивост на ендометриума става причина за безплодие, неуспех от лечението му и поредица от повтарящи се прекъсвания на бременността.

Недостатъчната възприемчивост на лигавицата на матката е оценена като причина за 2/3 от неуспешните имплантации, докато причините от страна на ембриона се срещат само в 1/3 от случаите. Динамичните промени, които се наблюдават в лигавицата на ендометриума в хода на различните фази на менструалния цикъл изискват разкриването както на нормалните механизми, така и на интимните патогенетични механизми и най-вече факторите, които ги регулират.

Идентифицираните и предложени до момента генетични маркери за възприемчив ендометриум не се прилагат широко, а изследването на микроРНК предлага нова перспектива за създаване на клинично приложим тест.

### **4. Познаване на проблема**

Въведението на дисертационния труд е кратко, но обхваща ясно основните насоки за необходимостта от разработването на избраната тема. Докторантката показва много задълбочено познаване на основните промени, свързани с клиничната част, както и много добро познаване на спецификата на изследването на микроРНК и тяхната значимост, което е представено в добре структурирания литературен обзор.

Цитирани са 333 заглавия, от които липсват такива на кирилица, но това отново добавя иновативността и специфичността на провежданите изследвания във връзка с дисертационния труд. От представените цитирания почти 46 % са от последните 10 години, а 16 % от всички цитирани литературни източници са от последните 5 години, което доказва интереса на изследователите и недостатъчните проучвания на този проблем.

Целта е формулирана ясно и обосновано, задачите за постигането на целта отразяват дизайна и са конкретно и точно описани.

## **5. Методика на изследването**

Методиката на изследването, подбрана за осъществяването на целта и задачите на дисертационния труд е разделена в две основни части: **клинична и молекулярно-биологична**.

В глава „**Материали и методи**“ всяка от представените части е подробно и вещо описана, с включването на всички необходими детайли, което отново показва изключително доброто познаване на проблема и изследваната област. Изборът на методика за анализ на микроРНК (прецизно описана в литературния обзор) представя основата на задълбочено проучване на темата и търсене на оптималните методи, които биха могли да бъдат използвани и в практиката.

## **6. Характеристика и оценка на дисертационния труд**

Структурата и съдържанието на дисертационния труд на докторантката съответстват на изискванията за придобиване на ОНС „Доктор“.

Дисертационният труд е написан на 132 страници и е онагледен с 9 таблици, 24 фигури и 5 схеми. Литературните източници съдържат цитирани 333 заглавия. Съдържанието включва 10 части, като предложеният дисертационен труд завършва с изводи, заключение, приложения и използвана литература.

Първа глава представлява **въведение и литературен обзор** по темата в размер на 53 страници, допълнени от 13 фигури, 4 схеми и 1 таблица. Подробно са представени и описани характеристиките на ендометриума, ендометриалния цикъл и ендометриалната рецептивност. Описани са основните характеристики, биогенеза и изоформи на микроРНК, както и пътищата за тяхното генериране и механизма им на действие. Последната част на литературния обзор е посветена на връзката между ендометриума и микроРНК, ролята им за ендометриалната рецептивност; в детайли е представено участието на микроРНК в процеса на децидуализация; възможностите за повлияване на ендометриалната рецептивност от микроРНК, секретирани и от ендометриума и от ембриона; приложението на микроРНК за отчитане на ендометриалната рецептивност и/или подобряването и.

Представените научни данни насочват към същината на изследването на дисертационния труд, като поставят стабилна основа и правят възможен логичен преход към методичната част.

**Целта** е ясна и добре формулирана и съответства напълно на основната идея на дисертационния труд. Във връзка с целта са поставени шест основни **задачи**, които са дефинирани точно, подобрите методики ги правят изпълними, както за постигането на поставената цел, така и за получаването на достоверни резултати.

**Материалите и подобрите методи**, както вече е споменато по-горе, са изключително добре представени и онагледени и са в размер на 11 страници. Важно е да се отбележи подробното описание на процедурите в клиничната част, което е представено на достъпен и разбираем език и предоставя поглед върху основните моменти, имащи отношение към ендометриалната рецептивност.

**Резултатите и дискусията** по темата на дисертационния труд включват задълбочен анализ и са описани в 31 страници.

Получените резултати в **клиничната част** дават обща характеристика на проучваните изменения на ендометриума в отделните фази на ендометриалния цикъл, хистологичните изменения – представени в многопанелни фигури – удостоверяващи находката, хормоналният статус, както и биопсичните проби, правещи връзката с установяването на механизмите на регулация и ролята на микроРНК в нея.

Последователно са представени етапите на извършения **молекулярно-биологичен** анализ с първоначално изолиране на РНК от ендометриалните биопсични проби, последващ количествен и качествен анализ. Идентифицирани са диференциално експресирани микроРНК и изоформите им през четирите фази на ендометриалния цикъл и наред с това е представен биоинформатичен анализ на данните.

Едни от най-важните получени резултати са установяването на микроРНК и изоформите, експресирани в ендометриалната тъкан е тяхната динамика в отделните фази на ендометриалния цикъл – нивата на експресия на идентифицираните членове на miR-125a, miR-92a/b и miR-99b, показващи тенденции за намаляване на прехода от пререцептивна към рецептивна фаза, както и установеното повишаване на нивата на експресия на изоформи от семействата miR-10a/b, miR-375, miR-449c и други по същото време.

Анализът на данните показва най-висока статистическа значимост в експресията на miR-449 и нейните изоформи, както и за miR-375 и една от нейните изоформи. Чрез дизайна на специфични праймери за всяка от тези микроРНК и изоформа допълнително е изготвена методика за установяването именно на специфичната им амплификация и оценка на относителните експресионни нива по време на имплантационния времеви период (прозорец). В допълнение е извършена съпоставка между две отделни пациентки – в репродуктивна възраст и

пременопаузална фаза с отчитане на получените възможни различия в експресията на посочените микроРНК.

**В заключението** е посочено, че в отделните фази на ендометриалния цикъл са налице сложни и комплексни взаимодействия и динамични промени, които са в пряка връзка с експресията на ендометриалните изоформи на микроРНК, представени от техните канонични или самостоятелно действащи изоформи. Контролът върху тях е установен от функционално свързани гени, регулиращи ендометриалната рецептивност, като с най-голям регулаторен потенциал се откроява фамилията на miR-449с, правещо я обещаващ предиктор за ендометриалната рецептивност.

**Изводите** са правилно структурирани и съответстват на поставените задачи като обобщават основните намерени резултати от проучването.

## **7. Приноси и значимост на разработката за науката и практиката**

Приносите на настоящия дисертационен труд са формулирани и представени в автореферата и отговарят на макрорамката за научни приноси.

Основен научно-приложен принос е свързването на клиничната с молекулярно-биологичната природа на измененията в ендометриалната лигавица в рамките на един и същ ендометриален цикъл, както и разкриването на връзките между експресията на микроРНК и изоформите им през този период.

В научно-теоретичен аспект идентифицирането на участието на фамилия miR-449, с нейните канонични и изоформи прогнозира регулаторния и ефект върху молекулярните механизми, обуславящи установяването на ендометриалната рецептивност.

Методичните приноси също са от съществено значение, тъй като чрез създадения дизайн на праймери могат да се установят относителните нива на експресия на фамилия miR-449 в биопсия при човек, което позволява в перспектива те да бъдат включени в диагностични и прогностични панели за оценка на ендометриалната рецептивност.

**Приемам всички формулирани приноси, представени във връзка с дисертационния труд.**

## **8. Преценка на публикациите по дисертационния труд**

Списъкът на публикациите, представени за процедурата за придобиване на ОНС “Доктор“ включва общо три (3) публикации: 2 публикации в международни списания с импакт фактор и една публикация в българско списание.

Публикациите могат да бъдат класифицирани по вид (статии – 3 броя), по значимост (статии в издания с импакт-фактор – 2 броя), по място на публикуване (статии в реферирани международни списания – 2 броя, статии в национални списания – 1 брой).

И двете публикации в реферирани международни списания са в Q2 квартили, отчетени съответно метриката на научните издания реферирани във Scopus Scimago Journal Rank (SJR) - <https://www.scimagojr.com/journalrank.php>.

**Спазени са минималните изисквания за придобиване на ОНС “Доктор“.**

### **9. Лично участие на докторантката**

Считам, че представените данни и изготвянето на дисертационния труд са изцяло заслуга на д-р Николова-Милова, като особено важен факт е вземането на биопсични проби от един и същ пациент във всички значими за ендометриалната рецептивност фази на цикъла. Направените изследвания и оценка са изключително комплексни и включват най-важните етапи както от клинична, така и от молекулярно-биологична гледна точка.

### **10. Автореферат**

Авторефератът отговаря на изискванията на съответните административни документи и по своята структура и съдържание отразява основните резултати, описани в дисертационния труд. В обема от 31 страници докторантката е пренесла както основните методични подходи, така и получените най-важни резултати, позволяващи последващи обобщения и потвърждение на тезата на дисертацията.

### **11. Критични забележки и препоръки**

Нямам критични забележки и препоръки към представения дисертационен труд.

### **12. Лични впечатления**

Познавам докторантката д-р Мария Николова Николова – Милова и уверено мога да потвърдя, че стремежа и към висок професионализъм и същевременно иновативността в научните и търсения винаги са били на първо място.

### **13. Препоръки за бъдещо използване на дисертационните приноси и резултати**

Препоръката ми за бъдещо използване на научните и научно-приложни приноси на дисертационното изследване е свързана с изготвянето на панел от микроРНК, които биха имали потенциала да служат като биомаркери при установени нарушения в ендометриалната възприемчивост.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Дисертационният труд *съдържа научни, научно-приложни и приложни резултати, които представляват оригинален принос в науката* и отговарят на всички изисквания(та) на Закона за развитие на академичния състав в Република България (ЗРАСРБ), Правилника за прилагане на ЗРАСРБ и съответния Правилник на ПУ „Паисий Хилендарски“.

Дисертационният труд показва, че докторантката д-р Мария Николова Николова – Милова **притежава** задълбочени теоретични знания и професионални умения по научна специалност Молекулярна биология като **демонстрира** качества и умения за самостоятелно провеждане на научно изследване.

Поради гореизложеното, убедено давам своята **положителна оценка** за проведеното изследване, представено от рецензираните по-горе дисертационен труд, автореферат, постигнати резултати и приноси, и **предлагам на почитаемото научно жури да присъди образователната и научна степен „доктор“** на д-р Мария Николова Николова – Милова в **област на висше образование 4. Природни науки, математика и информатика, професионално направление 4.3 Биологически науки, докторска програма Молекулярна биология.**

09. 05. 2024 г.

Рецензент: .....

(подпис)

Доц. Д-р Стоилка Мандаджиева, дм