

РЕЦЕНЗИЯ

От проф. д-р Христо Стефанов Гагов
Биологически факултет на СУ „Св. Климент Охридски“
на дисертационен труд за присъждане на образователната и научна степен ”доктор”
в професионално направление 4.3. Биологически науки,
научна специалност Клетъчна биология

Тема на дисертационния труд на д-р Георги Иванов Николов:
„Оценка на фенотипни и генетични биомаркери на човешки гранулозо-лутеинни клетки
и фоликулна течност за успешно приложение на процедури за асистирана репродукция
(АРТ)”

Общо представяне на процедурата и докторанта

Представеният комплект материали на хартиен и електронен носител е в съответствие с Процедурата за придобиване на ОНС „Доктор“ в СУ „Св. Климент Охридски“ и включва следните документи:

- автобиография
- копие от дипломи за висше образование
- заповеди на Ректора за записване в докторантура и за отчисляване с право на защита
- дисертационен труд
- автореферат
- списък на научните публикации по темата на дисертацията
- копия на научните публикации
- списък на участията в научни форуми
- други документи, свързани с хода на процедурата.

Кратки биографични данни за докторанта

През 1989 г. Георги Иванов Николов завършва АЕГ „Л. Димитрова“ - София със златен медал (успех 6:00). През 1995 г. се дипломира като Магистър по медицина, през 2003 г. придобива специалност Акушерство, гинекология и репродуктивна медицина, а от 2006 г. е Магистър по икономика, специалност „Здравен мениджмънт“ – всички те също с отличен успех. Освен това е преминал през допълнително обучение по АРТ и

ендоскопска хирургия, по лапароскопия, хистероскопия и др. у нас и във водещи европейски институти. Твърде богат е и клиничният и административният опит на д-р Георги Николов – за малко повече от 20 години той изпълнява своя професионален дълг като авиолекар в „БА“, ембриолог по асистирана репродукция (АР) във 2-ра САГБАЛ „Шейново“ след това е бил началник на лаборатория в същото лечебно заведение (началник Лаборатория по асистирана репродукция (АР)), а в последствие зам. директор в МЦ „РепроБиоМед“. В момента е управител и началник сектор „АР и ендоскопия“ в МЦ „РепроБиоМед“. Той притежава отлични езикови и социални умения и компетентности, богат експериментален и експертен опит и не на последно място се ползва с много добра репутация сред колеги, НПО и държавните институции, за които е търсен партньор.

Актуалност на тематиката и целесъобразност на поставените цели и задачи

Тематиката е актуално защото засяга сериозен социален проблем. Безплодието засяга над 10% от жените, което го характеризира като сериозен социален проблем. За немалка част от тях асистираните репродуктивни техники са единствен вариант да имат собствено поколение. Ин витро оплождането, макар и да се е превърнало в рутинна медицинска практика е все още неефективно при повече от половината от случаите, в които то се прилага. Развитието на научните изследвания и технически подходи, които биха допринесли за повишаване ефективността на ин витро процедурите, са от голямо значение за развитието на репродуктивната медицина и обогатяване на научните познания, свързани с оплождането и ембриогенезата. Следователно този труд е актуален и от научно-теоретична гледна точка.

Дисертацията на редовен докторант д-р Георги Николов е разработена под научното ръководство на проф. Росица Конакчиева дбн, която е авторитетен учен и преподавател в Биологически факултет на СУ „Климент Охридски“ и е утвърден специалист в областта на биологията на размножаването с реализирани множество изследвания и публикации. Този труд е базиран на 6 научни статии, като всички те са на английски език. Намират се в реферирани научни списания като една публикация е в „*American Journal of Reproductive Immunology*“, което списание за 2017 г. има ИФ 2.745. Участията на Георги Николов в научни форуми по темата на дисертацията са 6, от които 5 в страната (някои от тях международни конференции) и една във Виена, Австрия.

Дисертационният труд се състои от 116 страници, от тях 12 стр. литература. Размерът на шрифта е 10, т.е. реално страниците са доста повече. Дисертацията е отлично структурирана и съдържа всички необходими раздели.

В началото освен *Съдържание* и *Използвани съкращения* (90 на латиница и 7 на кирилица) има *Списък на фигурите с техните заглавия* и *Списък на таблиците*, което намирам за удачно.

Литературният обзор заема 28 стр. Той е подробен, интересен и разглежда множество различни аспекти на репродуктивната функция, нейната ендокринна и паракринна регулация, ролята на окислителни радикали, антиоксидантните механизми за защита на яйчника, ролята на имунологични фактори за безплодието и др. Разнородните акценти в тази въвеждаща част са достатъчно обстойно представени, което свидетелства за обширната общотеоретична подготовка или направо казано завидната ерудиция на д-р Георги Николов, която е плод на неговите дългогодишни системни усилия за опознаване на важните аспекти на женския (ин)фертилитет.

Разделът *Мотиви, цел и задачи* по същество включва мотив, цел, хипотези и основни изследователски задачи, за чието решаване се дефинират 11 експериментални задачи. Цялото изследване е базирано на разбирането, че недостатъчно проучените интрафоликуларни паракринни сигнални механизми са от ключово значение за качеството на зрелия овоцит и за успеха при ин витро оплождането. Съответно основната цел е да се открият значими молекулярно-генетични (напр. на генни транскрипти на някои важни протеини в кумулусните клетки) и имунологични (анти-гранулозни антитела, TNF- α и IFN- γ) маркери на безплодие при инфертилни жени, чрез регулирането на които да се оптимизират методите на асистирана репродукция.

Разделът *Материали и методи* е твърде богат. За изпълнение на планираните 11 експериментални задачи са използвани 16 методики и експериментални подходи. Такива са манипулациите контролирана овариална хиперстимулация, пункция за аспирация на фоликули (подбират се такива с размер над 10 мм), идентификация на кумулусно-овоцитни комплекси, ин витро фертилизация, интраовоцитно инжектиране на сперматозоиди с последващо култивиране и оценка на фертилизацията и развитието, обработка на фоликуларни течности с изолиране на гранулозни и кумулусни клетки, по-нататъшното използване на клетките за морфологична оценка на апоптоза, за извличане на антигени за ELISA и имуноблотинг, и др. Освен това е изследвано съдържанието на TNF- α , IFN- γ и антитела срещу гранулозни клетки във фоликулните течности и серума (само за последните), изследвани са антиоксидантните свойства на гранулозните клетки чрез определяне активностите на супероксид дисмутазата и каталазата, и др. Приведените подробни протоколи позволяват проследяването на всички етапи на

проведените експерименти и манипулации, и дават възможност за тяхното възпроизвеждане.

Резултати и дискусия. Данните в този раздел са много и са представени в текста, на 19 фигури и 8 таблици. Тук под дискусия се разбира кратък коментар върху получените резултати, какъвто рутинно се използва в научните публикации и не става дума за подробен анализ, в който се коментират получените данни и известните от литературата резултати и концепции. Поради това заглавие *Резултати* за този раздел считам за по-удачно. Иначе данните са убедителни и добре подкрепят изведените в изводите корелации между изследваните антители, антиоксидантни ензими, цитокини, апоптозните процеси в гранулозните клетки, ефекта на мелатонина, на възрастта като фактор и др. върху качеството на овоцитите и фертилитета. Статистическата обработка на данните е адекватна.

Разделът *Обсъждане* е на 9 страници. Той представлява задълбочена дискусия върху получените резултати и интерпретацията им според поставените цел и задачи. Твърде интересна е дискусията на имунологичните фактори за успеха на ин витро процедурите, както и за ролята на антиоксидантния капацитет на гранулозните клетки като фактор, антагонизиращ тяхната апоптоза и повишаващ фертилизационния индекс, за ролята на NF-κB, за мелатонинът като адекватен стимулатор на P540 ароматазната експресия и др.

Изводите и Приносите са формулирани кратко и ясно. *Изводите* – десет на брой – добре обобщават получените данни. Считам, че дългогодишния опит и ерудиция на д-р Георги Николов са му позволили да намери точното място на многобройните резултати от прилаганите най-различни методики и да направи на тяхната база релевантни обобщения. *Приносите* са три. Те засягат матурацията на развиващия се овоцит в зависимост от експресията на специфични гени в заобикалящите го кумулусни и гранулозо-лутеинни клетки. В резултат на тяхната активност се осигурява необходимата антиоксидантна защита, наличие на P450-ароматаза, на важни компонентни на фоликулната течност и др. Приемам изводите и приносите.

Библиографията включва 195 литературни източника. От тях 19 са след 2014 г. (~10%), а 56 (~29%) – след 2009 г.

Авторефератът на 54 страници представя кратко въведение, мотиви, цел и задачи, детайлно всички методики, резултати, изводи и приноси, както и шестте публикации и шестте участията в конференции по темата на дисертационния труд. Освен това тук са

показани всичките 32 фигури и 11 таблици. Накрая са приложени 67 заглавия на цитирана литература, т.е. малко повече от 1/3 от всички цитирани публикации в дисертационния труд, което представяне ми изглежда твърде подробно.

Имам следните забележки към този труд.

- 1) Пропуснати са някои съкращения на латиница. Макар този списък да съдържа 90 такива в него не фигурират FADD, GDF-9 и AGA.
- 2) Списъкът на съкращенията е добре структуриран по азбучен ред, но има изключение - IBD и ICSI са след IL, а не преди него.
- 3) За някои термини са използвани идентични или много подобни съкращения и на кирилица и на латиница – напр. COHS за controlled ovarian (hyper)stimulation и КОХС за контролирана овариална (хипер)стимулация. Добре е в текста да фигурира само едно от тях.
- 4) На 27 стр. се намират няколко квадратчета, останали от незнайно какво форматиране.
- 5) Думи като *ъпрегулиран* (стр. 84, 86) и *сигнификантна* (стр. 71, 85, 92 и др.) ми се струва, че могат да се заменят с български такива.
- 6) NO-синтаза, а не NO-синтеза (стр. 97, параграф 2, ред 19).

Всички тези забележки са от технически характер и не променят общата ми отлична оценка за представените изследвания.

Публикациите, които са включени към този труд са шест. Пет от тях са в „*Доклади на БАН*“ и една в „*American Journal of Reproductive Immunology*“. Статията „*UPREGULATION OF MT1 AND MT2 RECEPTORS BY IN VITRO MELATONIN AND MODULATION OF ALPHA-TUBULIN AND AROMATASE P450 EXPRESSION IN HUMAN GRANULOSA-LUTEIN CELLS*“ (2018) е представена в пълен текст, който е оформен според изискванията на „*Доклади на БАН*“, но не е приложена бележка за нейното приемане, а тя (все още) не фигурира и на сайта на списанието (проверено на 06.08.2018г.). Публикацията, която е представена само с резюме (Dineva et al., 2004, *Compt. Rend. Acad. Bulg. Sci.*, 57(8): 113-116) можеше да бъде сканирана, ако кандидатът по този конкурс не разполага с нейна електронна версия. Не са отбелязани цитирания на тези публикации. Справка в Google Scholar показва, че публикацията в *Am J Reprod*

Immunology (2005) е цитирана три пъти, от които един път в книга (https://scholar.google.bg/scholar?cites=8701295959527688513&as_sdt=2005&scioldt=0,5&hl=bg).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Смятам, че поставената цел и задачи са успешно изпълнени. По структура и съдържание представеният много интересен дисертационен труд отговаря напълно на изискванията на Закона за развитие на академичния състав в Република България (ЗРАСРБ), Правилника за неговото приложение за ОНС „Доктор“ и допълнителните препоръчителни критерии на Биологически факултет. Докторантът е представил научен труд, в който оригинални идеи за ендокринната и паракринна регулация при фоликулогенезата, и за ролята на имунологични и окислителни фактори са верифицирани чрез приложение на множество съвременни методи за комплексна оценка ролята на потенциални биомаркери от човешки гранулозо-лутеинни клетки и компоненти на фоликулната течност за целите на асистираната репродукция. Освен това представените данни са с принос за изясняване фундаментални зависимости и влияния, касаещи безплодието при жени, а в клиничен аспект се предлагат терапевтични подходи за подобряване качеството на овоцитите. На базата на гореизложеното препоръчвам на членовете на научното жури ДА ПРИСЪДИ образователната и научна степен „Доктор“ на д-р Георги Иванов Николов в професионално направление 4.3. Биологически науки, научна специалност Клетъчна биология.

06.08.2018 г.

Подпис:

(проф. д-р Христо Гагов)