

СТАНОВИЩЕ

от доц. д-р **Николина Михайлова Михайлова**, Лаборатория по имунохистохимия и имунопатология, Департамент Имунология, Институт по Микробиология „**Стефан Ангелов**“, Българска Академия на Науките
избрана за член на Научното жури със Заповед № РД-38-260/27.05.2025г.от Ректора на СУ „Св. Климент Охридски“
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. Биологически науки**
научна специалност „**Клетъчна биология**“

Автор: Румяна Руменова Ганева

Тема: ЗНАЧЕНИЕ НА ЕНДОМЕТРИАЛНИЯ ИМУНЕН ПРОФИЛ ЗА УСПЕВАЕМОСТТА ОТ АСИСТИРАНА РЕПРОДУКЦИЯ

Научен ръководител: доц. д-р Веселина Московска-Думанова

1. Общо описание на представените материали

Автор на дисертационния труд е Румяна Руменова Ганева – задочен докторант в катедра Клетъчна биология и биология на развитието към Биологически факултет на СУ „Св. Климент Охридски“, с научен ръководители доц. д-р Веселина Московска-Думанова.

Представеният за разглеждане комплект материали на хартиен носител и в електронен вариант, е в съответствие с изискванията на Закона за развитието на академичния състав в Република България (ЗРАСРБ), Правилника за прилагане на ЗРАСРБ и Правилника за условията и реда за придобиване на научни степени и заемане на академични длъжности в СУ „Св. Климент Охридски“.

Докторантката е приложила 3 броя публикации по темата на дисертацията и съответния доказателствен материал, списък с участия в научни проекти и представяния на научни конференции.

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

Успешната имплантация е процес на майчино-фетална имунна толерантност, който включва различни молекули. Инвазията на трофобласта може да активира майчиния имунен отговор към феталните антигени. Местните имунни клетки на мястото на имплантация в ендометриума, които се активират от ембриона, медиират майчино-феталната имунна толерантност и подпомагат развитието на плацентата. Те участват в регулацията на диференциацията на децидуалните клетки, ремоделирането на маточните кръвоносни съдове, подпомагат прикрепването на ембриона към епитела и регулират имунната активация. В този етап се активират имунни клетки, включително вродени лимфоцити, Т-клетки, децидуални дендритни клетки и

макрофаги, като тяхната активност също се свързва с неблагоприятни репродуктивни изходи, като повторящите се имплантационни неуспехи (RIF).

Ендометриалната имунна микросреда е определяща за ембрионалната имплантация и могат да бъдат разграничени няколко типа имунен профил, а именно: *Нормален имунен профил* характеризиращ си с балансирани показатели и оптимална среда за имплантация; *Хиперактивен имунен профил* при който се отчитат повишени НК клетки, Th1 доминантен отговор, което може да води до отхвърляне на ембриона; *Хипоактивен имунен профил* с недостатъчна активност, лоша подготовка на ендометриума за имплантация; *Дисбаланс в прозореца на имплантация* при който има несъответствие между трансфера и оптималния момент за прием на ембриона.

Темата на дисертацията засяга изключително важна и актуална област, която има значение както за клиничната практика и медицината, така и от научна гледна точка. Механизмите на ембрионалната имплантация и сложните взаимодействия между ендометриума, имунната среда и хормоналната сигнализация все още не са напълно изяснени. Идеята за търсене и подбор на имунни индикатори за ендометриална рецептивност, които да се използват за оценка и като биомаркери за имплантационен неуспех в още по-голяма степен затвърждават важноста на тематиката.

Целта е точно дефинирана, като за постигането ѝ са формулирани осем ясни и логически-свързани задачи.

3. Познаване на проблема

Впечатлението ми от представения литературен обзор е, че Румяна познава много добре съвременното състояние на изследваните от нея проблеми. Литературната справка е разделена на подраздели, които разглеждат основни аспекти от ролята на ендометриума в процесите на репродукция, ролята на имунната система в процесите на имплантация и при репродуктивните патологии, маркери за разпознаване на имунните клетки в ендометриума, съвременни имунотерапии. Материалът е представен синтезирано и разбираемо, което прави лесен прехода към същността на темата.

Чрез литературеният обзор, докторантката показва познание за типовете клетки на вродения и придобития имунитет, основни имунни процеси, както и механизми на регулация на имунния отговор. Всички тези знания са допълнени от комплексна информация за сложните процеси и условия предхождащи успешната имплантация и произтичащите от това механизми, които биха довели до успешно раждане. В отделен раздел, докторантката е представила основните изменения които се установяват при диагностицирането на имуномедиирани повтарящи се имплантационни неуспехи. Това затвърждава нейните знания и компетенции по представената тема.

4. Характеристика и оценка на дисертационния труд и приноси

Дисертационният труд е изготвен съобразно общоприетата схема, а именно съдържа 192 стр., 37 фигури, 23 таблици и библиографична справка, включваща 346 литературни източника. Структуриран е в следните глави: *Заглавие; Съдържание; Използвани съкращения; Увод* – 2 страници; *Литературен обзор* – 57 страници включващи 11 илюстративни фигури и 4 таблици, 6 подраздела - *Роля на ендометриума в процесите на репродукция; Роля на имунната система в процесите на*

имплантация; Маркери за разпознаване на имунни клетки в ендометриума; Роля на имунните клетки в репродуктивните патологии; Методи за диагностика на имуномедиран RIF при ин витро пациенти; Имунотерапия при ин витро пациенти; *Цели и задачи* – 1 страница, с поставени 8 задачи; *Материали и методи* – 17 страници; *Резултати* – разделени са на две части – етап 1 и етап 2 – общо 23 страници, включващи 13 таблица и 15 фигури с добро качество; *Дискусия* – разделена на две части съответстващи на резултати етап 1 и етап 2, състояща се от общо 14 страници и 3 схематични фигури. Представява синтезирана и обобщена информация от получените резултати в дисертационния труд; *Изводи* – 1 страница, изведени са 6 извода напълно отговарящи на получените резултати и в съответствие с поставените цели и задачи; *Заключение* – 2 страници; *Приноси* – 1 страница.

В изследването са използвани специфични и разнообразни клинични и лабораторни методи за подбор и анализ на включените в проучването пациенти, както и богат набор от статистически анализи. Докторантката показва добро познаване на същността на методите и подходите, дори и тези които са извършени от профилирани специалисти и лекари.

Докторантката и нейния ръководител са избрали подход за представяне на получените резултати в два етапа. В първи етап са представени резултати от проведения анализ на имунни показатели в ендометриум на пациенти с многократни имплантационни неуспехи и резултата от проведения ембрионалин трансфер. Във втори етап от изследването на Румяна Ганева са представени данни от трансфера на автоложни периферни моноклеарни клетки като подход за преодоляване на имплантационните неуспехи, като е проведен анализ на избраните от етап 1 имунни показатели.

Добро впечатление прави опитът на дисертантката да анализира получените комплексни данни и да изведе логични и обосновани изводи потвърдени и от научна литература. Способността на докторантката да дискутира и интерпретира получените от нея резултати спрямо други публикации по темата, още по-ясно показват степента на познаване на тематиката от кандидатката.

Изведените от всеки етап изводи, синтезирано представят получените резултати.

Формулирани са научно-теоретични и научно-практически приноса, а именно:

Научно-теоретични

- Сравнени са ендометриалните имунни профили между пациенти с успешна и такива с неуспешна ембрионална имплантация и са изведени изводи относно значението на имунния профил за ендометриалната рецептивност при ин витро пациенти.
- Изследван е ефектът на едно от най-често използваните имунологични лечения при ин витро пациенти – интраутеринно поставяне на автоложни РВМС, върху ендометриалния имуноен профил, както и върху успеваемостта на пациенти с повтарящи се имплантационни неуспехи.

Научно-практически

- Проведеното изследване дава възможност да се създаде алгоритъм за оценка на ендометриалния имунен профил и състоянието на рецептивността на ендометриума при ин витро пациенти чрез изведените индикатори за имунно състояние и ендометриалната рецептивност.
- За първи път в България са изведени индикатори за изследване на ефектите от приложението на системни или локални имунни терапии върху ендометриалния имунен профил и ендометриална рецептивност при ин витро пациенти с повтарящи се имплантационни неуспехи.
- За първи път в България е изведен конкретен индикатор за ефекта на едно от най-често използваните имунологични лечения при ин витро пациенти - интраутеринно поставяне на автоложни РВМС, върху ендометриалния имунен профил и ендометриалната рецептивност.
- Изграденият теоретичен модел може да се развие и приложи за изследване на ефекта на разнообразни имунотерапии (локални или системни) върху ендометриалната рецептивност.

5. Преценка на публикациите и личния принос на докторанта

То темата на дисертацията има публикувани две статии в реферирани международни научни списание (една в Q1 и една в Q2) и една в Годишник на Софийския университет. Представените статии са с общ IF 6.1.

По време на дисертацията си, Румяна Ганева има множество участия с постери и презентации на научни форуми.

Общата научна продукция на Румяна Руменова Ганева е 19 публикации в международни списания, цитирани 79 пъти; по данни на Scopus, h-индексът на докторантката е 6.

Лично участие на докторантката - В две от представените статии по темата на дисертацията, Румяна Ганева е първи автор, а в третата публикация е втори автор. Това ми дава основание да приема безспорно личния принос на дисертантката в извършените изследвания.

6. Критични забележки и препоръки

Не съм напълно съгласна с твърдението направено в литературния обзор, а именно „ $\gamma\delta$ T са широко разпространени в мукозата на матката, близо 70% от децидуалните Т лимфоцити притежават $\gamma\delta$ T рецептори и повечето са активирани“.

В децидуата се наблюдава обогатяване на определени субпопулации $\gamma\delta$ T клетки, особено в ранните етапи на бременността, като те участват в регулация на имунния баланс, насърчаване на тъканното ремоделиране и съдовата адаптация и поддържане на имунен толеранс към ембриона. При хората процента на тези клетки е между 5-10% от Т клетките. За сравнение, при мишки, достигат 60-70%.

Независимо от малката представителност, тези клетки са изключително важни и в тази връзка имам следните въпроси:

- ❖ *Какво е отношението на този тип клетки към конкретните проведени експерименти?*
- ❖ *Правен ли е анализ на съотношението $\alpha\beta/\gamma\delta$ T лимфоцити и възможно ли е по-високия процент общи T клетки при неуспешна имплантация да се дължи на промяна в това съотношение?*
- ❖ *При извършване на анализите за подбор на имунните индикатори за рецептивност взети ли са предвид и този тип клетки?*
- ❖ *На какво може да се дължат доста по-ниските нива на IL-4 в серума на RIF пациентите спрямо контролната група и може ли това да има отношение към неуспешните в следствие имплантации?*
- ❖ *Би ли могла докторатката да спекулира за въздействието на значително по-високият ВМІ регистриран при групата с неуспешна имплантация в сравнение с групата с успешна имплантация?*

7. Автореферат

Авторефератът към дисертационния труд на Румяна Ганева отразява основните постигнати резултати и отговаря на всички общоприети изисквания в Правилника за прилагане на закона за развитието на академичния състав в Република България (ППЗРАСРБ) за изготвянето му.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Дисертационният труд **съдържа научни и научно-приложни резултати, които представляват оригинален принос в науката** и отговарят на всички изисквания на Закона за развитие на академичния състав в Република България (ЗРАСРБ), Правилника за прилагане на ЗРАСРБ и Правилника на Софийски Университет „Св. Климент Охридски“.

Дисертационният труд показва, че Румяна Ганева **притежава** задълбочени теоретични знания и практически умения като **демонстрира** качества и способности за самостоятелно провеждане на научно изследване.

Въз основа на изложеното, убедено давам своята **положителна оценка** за проведеното изследване, и **предлагам на уважаемото жури да присъди на Румяна Ганева образователната и научна степен „Доктор“ в направление 4.3. Биологически науки.**

07.07.2024г.

Рецензент:

(доц. д-р Николина Михайлова)