



СТАНОВИЩЕ

от доц. д-р Таня Георгиева Димова,
Институт по биология и имунология на размножаването, БАН, София
член на научно жури съгласно заповед №64/25.01.2017г. на Директора на ИБИР, БАН

за дисертационен труд за присъждане на образователната и научна степен „ДОКТОР” по научна специалност „Имунология” – шифър 01.06.23 в професионално направление 4.3. Биологични науки

на свободен докторант **Ивайло Методиев Вангелов**, секция „Имунобиология на размножаването”, ИБИР, БАН

Тема на дисертационния труд: „**Антиовариални антитела и инфертилитет**”

Научен ръководител: **доц. Мария Д. Иванова**

Актуалност и значимост на тематиката

Имунологично обусловеният инфертилитет е значителен здравен проблем и в национален, и в световен мащаб. Демографско проучване на Световната здравна организация сочи, че една на всеки четири двойки в развиващите се страни е засегната от инфертилитет, а в USA през 2015 г. 7 милиона жени между 15-44 години не могат да заченат и да изнесат здраво дете. Последствията, свързани с инфертилитета са изключително стресови, дори повече от конвенционалните типове стрес, например 55% от анкетиранияте инфертилни жени сочат, че това състояние по-стресово от безработицата, а 61% смятат, че е по-стресово от развода т.е. социалните последствия за обществото са изключително значими. Подходите на асистираната репродукция предоставят все по-големи възможности за преодоляване на безплодието, но в много от случаите на неуспешни IVF-ET процедури са намесени автоимунни механизми в т. число овариален автоимунитет и в частност антиовариални антитела /АОА/. Преовулаторните гранулоза-лутеинизирани клетки /GLC/ са потенциален източник на прицелни антигени за анти-GLC антитела като част от групата на АОА. Непроучените аспекти антиовариален имунитет–инфертилитет налагат необходимостта от разработване на специфични и чувствителни диагностични тестове за едновременното диагностициране на АОА при голям брой жени с автоимунно овариално заболяване и/или от програми за IVF-ET от една страна и от друга за прогнозиране на резултатите от евентуалното провеждане на процедура на COS/IVF-ET и/или на имуномодулираща терапия при автоимунно овариално заболяване. В тази връзка резултатите на настоящия дисертационен труд са актуални и значими в поне три аспекта. Първо, придобиване на нови знания за имунологичната страна на успешната фертилизация и автоимунните нарушения като причина за неуспешно оплождане. Второ, обект на това изследване са една доста интересна и малко проучена клетъчна популация - гранулоза-лутеинизирани клетки, които са соматични клетки по произход, но имат важна имунологична роля в яйчниковия фоликул и играят ключова роля в дефиниране на микросредата, в която ооцитът зрее и придобива оплодителен капацитет. Трето, проучването цели да хвърли светлина върху хуморалната компонента на яйчниковите автоимунни реакции.

Структура на дисертационния труд

Дисертационният труд е написан е на 115 стандартни страници, вкл. литературна справка от 250 източника и е онагледен с 16 фигури и 18 таблици. Задължителните за този тип научен труд раздели са под формата на отделни глави.

Характеристика и оценка на дисертационния труд

Литературният обзор е логично структуриран, в малко по-голям обем от обичайния, оформен в отделни параграфи, посветени на овариалния автоимунитет и преждевременната овариална недостатъчност, антиовариалните антитела и връзката им с инфертилитета, различните видове прицелни антигени на овариалните автоимунни реакции и значението на антиовариалните антитела при асистираната репродукция. Освен на постиженията на други автори, докторантът се позовава и на множество предходни изследвания по темата на групата в която работи, което безспорно е солидна база, на която той е стъпил и надградил със собствения си труд. Оскъдните и вариабилни данни за антиовариалните антитела и ролята им в инфертилитета мотивират авторът в поставянето на целта на настоящия дисертационен труд, а именно изследване нивата и клиничното значение на антитела срещу антигени на преовулаторни гранулоза-лутеинизирани клетки и връзката им с апоптозата на GLCs и секреция на провъзпалителни цитокини при инфертилни жени в програма за ин витро оплождане и ембрио трансфер. Задачите за изпълнението на целта са адекватни и ясно формулирани, а използваните методи – релевантни и добре комбинирани. Успешното разработване и валидиране на собствен имуноензимен тест за установяване на анти-GLCs антитела в серум и фоликулна течност е безспорен успех и прави възможен мащабния скрининг на серуми и фоликулни течности от инфертилни жени от програми за IVF-ET за АОА и проучване на тяхното клинично значение. Впечатляващ е броят на инфертилните жени и фертилни контроли, включени в изследванията - 394 жени общо, от които инфертилни 296 и фертилни 98. Инфертилните жени прецизно са категоризирани по следните критерии: по етиологични причини за безплодие - пациентски групи с комбиниран, тубарен и с овариален стерилитет; по овариален отговор на COS: пациентски групи с добър и с лош отговор на COS; по ниво на IVF: пациентски групи с високо и с ниско ниво на IVF. Достъпа до тези пациентски групи е в резултат на добрата колаборация с II САГБАЛ "Шейново" и Медицински Център "РепроБиоМед ООД". Използваните методи са описани детайлно и разбираемо, което осигурява повтorenieto им от други автори при нужда.

Резултатите са обобщени в няколко големи групи – относно анти-GLC и анти-ZP антитялореактивност в серума и фоликулната течност на инфертилни жени от програми за IVF и клинично значение на тези два вида антиовариални антитела, относно прицелни GLC антигени и относно нивата и ролята на про-възпалителните цитокини и апоптозата на GLC в корелация с високи нива на анти-GLC антитела във фоликулната течност на инфертилни жени за изхода на ин витро процедурата. Адмиравам подхода на автора да изследва антиовариалните антитела както в периферната циркулация /серума/, така и в локалната циркулация /фоликулната течност/. Първата е по-далеч от сцената на събитията, но пък лесно достъпна за изследване, втората е по-концентрирана на събития, но трудно достъпна. Проведените в този дисертационен труд проучвания са първите, в които GLCs от фоликулни аспирати на жени от програми за IVF-ET са използвани като антигенен материал в ELISA и в имуноблот за изследване на АОА. Установената по-висока честота на повишени анти-GLCs антитела при инфертилните жени, в сравнение с фертилните определя преовулаторните GLCs като потенциален източник на прицелни молекули за

анти-овариалния автоимунитет. Идентифицирани са 4 прицелни антигена за анти-GLCs антителата в серума на инфертилните жени, а именно, GLCs протеини с Mr: 37 kDa, 47 kDa, 70/80 kDa и 110 kDa, с което авторът добогатява палитрата от установени вече прицелни антигени в други овариални структури при предишни проучвания на други автори. Интересно е да се отбележи, че наличието на анти-GLCs антитела в серума и/или във фоликулната течност на инфертилните жени, не винаги е свързано с негативен ефект върху отговора им на COS, но винаги обуславя ниско ниво на ин витро оплождане дори и при жени, показали добър отговор на COS. Оригинални са данните за високото ниво на междувидова кръстосана реактивност и консервативност на антигените на човешки, свински и говежди GLCs. Резултатите, свързани с анти-ZP антитялореактивността и консервативността на ZP антигените са предимно потвърдителни. Интересни са резултатите, свързани с про-възпалителната и про-апоптична микросреда в преовулаторните фоликули на инфертилни жени с високи нива на анти-GLC антитела локално. Установени са две важни находки: 1) във фоликулната течност на жени с овариален стерилитет и позитивни за анти-GLCs антитела се установяват повишени нива на провъзпалителните цитокини TNF- α и IFN- γ и по-висока апоптоза в GLCs и 2) комбинацията от повишени нива на проинфламаторните цитокини във фоликулната течност и по-високия апоптичен индекс на GLCs на тези жени обуславят лош отговор на COS и ниско ниво на IVF. В дискусиата Ивайло Вангелов коректно е отразил получените данни от други автори и на фона на тях критично е анализирал собствените си резултати като очертава и насоки за нови изследвания. В унисон с най-новите имунологични концепции, авторът прави интересни разсъждения за ролята на апоптозата като нормално явление по време на фоликуло- и оогенезата в генезиса на автоимунна реакция срещу GLCs.

Изведени са седем извода, които са ясни, точни и категорични. Обособена е отделна глава с приносите на дисертационния труд според автора, които напълно приемам.

Авторефератът правилно отразява основните резултати на дисертационния труд като е подготвен и изработен според правилата.

Дисертационният труд е с безспорни качества, доказателство за което е фактът, че основните резултати от него са публикувани в три статии с общ IF 2.376. И в трите статии докторантът е първи автор. Ивайло Вангелов има пет участия в научни форуми, на които е докладвал резултати от дисертацията си. Наукометричните му показатели напълно удовлетворяват националните и превъзхождат институционалните изискванията за такъв научен труд.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ: Дисертационният труд, представен от Ивайло Вангелов, е изработен и представен професионално и с необходимата научна компетентност върху тематика, която е безспорно актуална. Дисертационният труд напълно отговаря на изискванията за придобиване на образователна и научна степен „Доктор” заложили както в ЗРАС в РБ и Правилника за неговото приложение, така и в Правилниците на БАН и ИБИР. Напълно убедено давам положителна оценка и препоръчвам на уважаемите членове на Научното жури да вземат решение за присъждане на образователната и научна степен ”Доктор” по научната специалност „Имунология” на Ивайло Методиев Вангелов.

Тази дисертация е тържество на човешкия дух. Ивайло показва на всички нас, че човек може да извади неподозирана сила, кураж, твърдост и последователност за да постигне целта си, стига да не е сам. Този силен човек е много раним и слаб, когато е сам. Само си

представете за миг какво можете да направите със затворени очи - от дребните ежедневни неща, които съпътстват чисто физическото ни съществуване до това да се развивате духовно и професионално нищо. И трябва да започнете отначало, да се учите да живеете, да се учите да ходите, да се храните, да се обличате, да почиствате и подреждате дома си, да общувате с околните без да им натрапвате недъга си, да четете и работите без да виждате. Започвате втория си живот и в него почти през цялото време сте сами. Запитайте се колко от нас биха били толкова силни, че да могат да живеят така. Иво даде урок на всички нас, зрящите.

14.03.2017 г.
София



Доц. д-р Таня Димова