

РЕЦЕНЗИЈА

**НА ДОКТОРСКА ДИСЕРТАЦИЈА СО НАСЛОВ „РЕЗУЛТАТИ ОД ИНВИТРО
ОПЛОДУВАЊЕ КАЈ ПАЦИЕНТКИ СО НАМАЛЕНИ ОВАРИЈАЛНИ РЕЗЕРВИ
ПО ИНТРАОВАРИЈАЛНА АПЛИКАЦИЈА НА АВТОЛОГНА ПЛАЗМА
ЗБОГАТЕНА СО ТРОМБОЦИТИ, АКТИВИРАНА СО КАЛЦИУМ ГЛУКОНАТ:
ПЛАЗМА ЗОГАТЕНА СО ТРОМБОЦИТИ ПЕРСПЕКТИВНА ТЕРАПИЈА
ВО ИДНИНА“, ПРИЈАВЕНА НА ФАКУЛТЕТ ЗА МЕДИЦИНСКИ НАУКИ,
УНИВЕРЗИТЕТ „ГОЦЕ ДЕЛЧЕВ“ – ШТИП**

Со Одлука донесена на 30. седница на Наставно-научниот совет на докторски студии на Кампус 3, Факултет за медицински науки, Универзитет „Гоце Делчев“ во Штип од 20.11.2020 година, формирана е Комисија за оценка и одбрана на докторската дисертација со наслов: „Резултати од ин витро оплодување кај пациентки со намалени оваријални резерви по интраоваријална апликација на автологна плазма збогатена со тромбоцити, активирана со калциум глуконат: плазма збогатена со тромбоцити перспективна терапија во иднина“ пријавена и изработена од кандидатката м-р д-р Снежана Стојковска, во состав:

- проф. д-р Ѓорѓи Бабушку – претседател
- проф. д-р Глигор Димитров – член, ментор
- проф. д-р Славејко Сапунов – член, екстерен ментор
- проф. д-р Никола Оровчанец – член
- проф. д-р Зоранчо Петановски – член.

Комисијата во наведениот состав го разгледа доставениот материјал и го поднесува следниов

ИЗВЕШТАЈ

Докторската дисертација со наслов „Резултати од ин витро оплодување кај пациентки со намалени оваријални резерви по интраоваријална апликација на автологна плазма збогатена со тромбоцити, активирана со калциум глуконат: плазма збогатена со тромбоцити перспективна терапија во иднина“ од кандидатката м-р д-р Снежана Стојковска претставува самостоен оригинален научноистражувачки труд, презентирани на 77 страници, со фронт и проред според пропозициите за изработка на докторски труд согласно со Правилникот за трет циклус студии на УГД. Дисертацијата содржи 29 табели, 13 графикони и 92 референци. Трудот ги содржи следниве поглавја: Резиме на македонски и на англиски јазик, Вовед, Мотив, Цели на истражувањето, Материјал и методи на работа, Резултати, Дискусија, Заклучоци, и Литература.

Во поглавјето **Вовед**, кандидатката ја елаборира основната идеја за употребата на плазма збогатена со тромбоцити како потенцијално нов третман кај пациентки со неадекватен одговор (poor ovarian responders -POR) на контролирана оваријална стимулација при ин витро фертилизација. Исто така, ги опишува детално најчестите етиолошките фактори кои можат да доведат до оваа состојба. Третманот на овие пациентки претставува клинички предизвик и предмет на многу студии во последните две декади. Главна цел со употребата на оваа метода е да се отвори патот за формулирање на ефикасни и соодветни протоколи или модалитети за лекување на оваа група на жени кои се подложени на третман со ИВФ-ЕТ врз основа на докази.

Во воведот кандидатката етапно преку историски осврт ги елаборира досегашните третмани кај оваа група пациентки. Исцрпно ја прикажува етиологијата, клиничката слика и дијагностичките критериуми за дефинирање на пациентките со намалени оваријални резерви.

Паралелно со анализата и литературните сознанија за плазма збогатена со тромбоцити (ПРП), кандидатката детално ги цитира и посочува карактеристиките, досегашните сознанија за бенефитот од оваа употребата на оваа метода во медицината. Имено ефектот од плазма збогатена со тромбоцити се користи во третман на повреди на меките и сврзните ткива, како и во коскените графтови. Употребата на ПРП доведува до забрзано здравување на повреденото ткиво, ангиогенеза и ткивно ремоделирање со тоа што стана рутински третман во ортопедија, дерматологија и третман за некои автоимуни болести.

Целите кои се поставени за истражување и изработка на трудот се јасно дефинирани:

Примарни мерења (временски период на следење од 12 месеци по направена оваријална рејувенација):

- *ИВФ-параметри со кои се следи контролирана оваријална стимулација*: денови на индукција, број на потрошени ампули, број на фоликули, број на пунктирани фоликули, број на зрели јајни клетки, квалитет на оцити, максимална концентрација на естрадиол на денот на hCG администрација, како и дебелината на ендометриум на денот на ембриотрансфер.
- *ИВФ-параметри со кои се дефинира успехот од ин витро фертилизација*: фертилизациона стапка, имплантациона стапка, стапка на клиничка бременост, стапка на живородени деца.

Секундарни мерења (временски период на следење од 1 до 3 месеци по направена оваријална рејувенација):

- промени на нивото на фоликул-стимулирачки хормон (FSH);
- серолошки промени на нивото на антимицелеров хормон (AMH);
- серолошки промени на нивото на естрадиол;
- промени на вкупниот број на антралните фоликули (AFC) .

Почетните истражувања водат кон следење на биомаркерите за процена на оваријалните резерви. Преку нив во оваа докторска дисертација се прави обид да се стави акцент на позитивниот ефект од употребата на автологна плазма збогатена со тромбоцити (PRP), како нов потенцијален третман за лекување на оваријален инфертилитет. Со оваа студија сакаме да потврдиме дека третманот со автологна плазма збогатена со тромбоцити може да доведе до оваријална регенерација и реактивација на фоликулогенезата, со што доведува до продолжување на репродуктивниот потенцијал на жената.

Во поглавјето **Материјал и методи на работа** е даден дизајнот на студијата и направен е опис на пациентите кои се вклучени во истражувањето. Студијата е клиничка ретроспективно-проспективна („follow up study“), спроведена во периодот од јуни 2017 до декември 2019 година, во Клиничката болница „Ремедика“ во Скопје. Анализирани се вкупно 60 пациенти кои ги исполнувале критериумите за намалени оваријални резерви според препораките на Европското здружение за репродуктивна медицина и ендокринологија (ESHRE).

Во ова поглавје, покрај критериумите за вклучување на пациентите во истражувањето, дадени се и критериумите за исклучување, критериумите за процена на ефектите од PRP, како и потребните лабораториски испитувања. Подробно е опишана методата, следените параметри пред и по интраоваријална апликација на PRP. Методолошката рамка ја сочинува методот на оваријална рејувенација со автологна ПРП кој како постапка се изведува во два чекори. Најпрво се зема периферна крв во специјални епрувети со цел да се направи центрифугирање и сепарирање на белите крвни клетки и тромбоцити. ПРП ќе се спрема со RegenACR-C кит. Истиот е FDA одобрен сет. Автологна, тромбоцитно збогатена плазма со протеински фактори на раст ќе се аплицира трансвагинално под ултразвучна контрола.

На крајот од ова поглавје е даден и статистичкиот метод, односно, наведени се сите статистички тестови со кои е направена анализа на податоците од интерес за изработка на докторската дисертација.

Во поглавјето **Резултати**, кандидатката сите добиени резултати од интерес ги прикажува прегледно и систематизирано во 29 табели и 13 графикони, со јасно интерпретирање на направените анализи. Првичните резултати за евалуирање на успехот од ин витро фертилизација кај пациентки каде што пред постапката за ИВФ е направена интраоваријална апликација на PRP се охрабрувачки. Притоа јасно е дека претстојат повеќе предизвици во интерпретирање на овие резултати. Еден од нив е непостоењето на стандарден протокол за оваријална стимулација на пациентки – poor responders.

Студијата јасно покажа промена на оваријалните маркери: хормонални (FSH;AMH) и функционални (AMH) пред и по интраоваријалната апликација на PRP. Притоа се детектира сигнификантна значајна статистичка разлика во вредностите на FSH и AMH. Имено, За $t=3,58$ и $p<0,01$ ($p=0,003$) вредноста на FSH по давањето PRP значајно е помала во однос на вредноста на FSH пред давањето PRP. За $z=2,29$ и $p<0,05$ ($p=0,02$) вредноста на AMH по давањето PRP значајно е поголема во однос на вредноста на AMH пред давањето PRP. Набљудувани се и промените на антрални фоликули пред и по апликација на PRP. Забележано е статистички сигнификантно зголемување на бројот на антрални фоликули. За $Z=3,41$ и $p<0,001$ ($p=0,0007$) бројот на антрални фоликули по давањето PRP значајно е поголем во однос на бројот на антрални фоликули пред давањето PRP.

Резултатите покажаа зголемување на фертилизациона, имплантациона и клиничка бременост и стапка на живороденост на ИВФ-циклус/ембрио-трансфер во групата на пациентки каде што пред постапката за ИВФ е направена интраоваријална интракортикална апликација на аутологна плазма збогатена со тромбоцити. Истата не покажа значајна статистичка сигнификантност со контролната група, но покажува тенденција кон зголемување на стапката на живороденост, која всушност е најважен параметар за процена на успехот на ИВФ.

Во поглавјето **Дискусија** кандидатката исцрпно ги образложува добиените резултати и ги споредува со податоци од достапната литература која е од интерес за истражувањето. Добиените и презентирани резултати во студијата отвораат едно ново поглавје во репродуктивната медицина, која во блиска иднина ќе може да го докаже соодветен терапевтски потенцијал од PRP врз основа на медицина базирана на докази. Студијата го покажа беневитот од употребата на PRP кај пациентки со намалени оваријални резерви преку намалување на вредностите на серумскиот и зголемување на бројот на антрални фоликули, што сè заедно води до зголемување на стапката на клиничка бременост кај овие пациентки. На овој начин ќе може да се дефинира, правилно да се селектира најсоодветна популација на пациентки за PRP-методата и да се направат потребните истражувачки чекори за да се обезбеди адекватен беневит од употребата на PRP како третман за лекување на оваријален инфертилитет.

По спроведувањето на истражувањето и по направените анализи, кандидатката во поглавјето **Заклучоци** ги наведува ефектите од употребата на ПРП во реактивација на фоликулогенезата во оваријалното ткиво. На тој начин пациентките со намалени оваријални резерви кои често имаат ограничено време за лекување, ќе им се понуди избор на потенцијално нов третман во лекување на оваријален инфертилитет. Начинот на добивање на PRP е едноставен, минимално инвазивен и со ниска цена. Високата концентрација на фактори на раст и цитокини во PRP во оштетеното ткиво влијае врз постигнувањето рамнотежа меѓу анаболните и катаболни процеси, оптимизирајќи ја ткивната околина и фаворизирајќи го процесот на заздравување на ткивото. Дополнително со користење на PRP се избегнуваат разни етички, расни и генски прашања и ограничувања, како и можност за пренос на одредени инфективни заболувања.

Со оглед на отсуството на значајни несакани ефекти и достапноста на PRP како метода за оваријално подмладување, неопходни се понатамошни истражувања во блиска иднина преку кои ќе може да се докаже соодветен терапевтски потенцијал од PRP врз основа на медицина базирана на докази.

Како користена **Литература**, м-р д-р Стојковска цитира 92 референци од кои најголемиот број се од понов датум, што говори за актуелноста на истражуваната проблематика.

Научен придонес на докторската дисертација

Намалувањето на нивото на FSH, следено со зголемување на вредностите на AMH и зголемување на бројот на антралните фоликули по интраоваријална апликација на PRP, ја поддржува идејата за терапевтски потенцијал од употребата PRP како третман за пациентки со намалени оваријални резерви кои лекуваат оваријален инфертилитет. Се смета дека резултати од овој труд ќе дадат научен придонес во областа на репродуктивната медицина, а секако ќе овозможат и одреден степен на клиничка апликативна функционалност кај овие пациенти, кои се еден од најголемите предизвици во репродуктивната медицина.

Исполнетост на законските услови за одбрана на докторатот

М-р д-р Снежана Стојковска по запишувањето на докторските студии, а пред одбраната на докторската дисертација има објавено како автор 4 научни труда во реномирани списанија со меѓународен уредувачки одбор.

ЗАКЛУЧОК И ПРЕДЛОГ

Комисијата за оценка и одбрана детално ја разгледа докторската дисертација со наслов „Резултати од ин витро оплодување кај пациентки со намалени оваријални резерви по интраоваријална апликација на автологна плазма збогатена со тромбоцити, активирана со калциум глуконат: плазма збогатена со тромбоцити перспективна терапија во иднина” од кандидатката м-р д-р Снежана Стојковска и донесе заклучок дека истата претставува самостоен научен труд, со систематски разработена проблематика и оригинални научни истражувања и резултати. Докторската дисертација врз основа на содржината, обемот и постигнатото ниво на квалитет на научна работа ги исполнува сите условите за изработка на докторска дисертација.

Врз основа на изложеното, Комисијата има чест и задоволство да му предложи на **Наставно-научниот совет на докторски студии на Кампус 3 да ја прифати позитивната рецензија на докторската дисертација со наслов „Резултати од ин витро оплодување кај пациентки со намалени оваријални резерви по интраоваријална апликација на автологна плазма збогатена со тромбоцити, активирана со калциум глуконат: плазма збогатена со тромбоцити перспективна терапија во иднина” од кандидатката м-р д-р Снежана Стојковска и да и одобри јавна одбрана на истата.**

РЕЦЕНЗЕНТСКА КОМИСИЈА

Проф. д-р Ѓорѓи Бабушку, претседател, с.р.

Проф. д-р Глигор Димитров, член, ментор, с.р.

Проф. д-р Славејко Сапунов – член, екстерен ментор, с.р.

Проф. д-р Никола Оровчанец – член, с.р.

Проф. д-р Зоранчо Петановски – член, с.р.