



Kraków 09.07.2020

**Recenzja rozprawy doktorskiej mgr Patrycji Marii Skowrońskiej pt. „Ocena płodności pacjentek w zależności od poziomu witaminy D oraz innych witamin rozpuszczalnych w tłuszczach, w płynie pęcherzykowym w pęcherzykach jajnikowych oraz osoczu”**

wykonanej w Zakładzie Pielęgniarstwa Położniczo-Ginekologicznego Instytutu Pielęgniarstwa i Położnictwa Wydziału Nauk o Zdrowiu z Instytutem Medycyny Morskiej i Tropikalnej

Promotor: prof. dr hab. n.med. Krzysztof Łukaszuk

Przedstawiona do recenzji praca porusza istotny temat jakim jest niepłodność. Według definicji o niepłodności mówimy gdy mimo regularnego współżycia para nie zachodzi w ciążę po 1 roku starań. Szacuje się, iż dotyka ona nawet do 20 % par a WHO określa ją mianem choroby cywilizacyjnej.

Temat rozprawy doktorskiej jest interesujący ponieważ w chwili obecnej w świecie naukowym trwają badania nad składem płynu pęcherzykowego oraz jego wpływu na komórkę jajową i powstające w wyniku jej zapłodnienia pozaustrojowego zarodki. Jak wiadomo witaminy rozpuszczalne w tłuszczach odgrywają istotną rolę w prawidłowym funkcjonowaniu organizmu. Interesujący wydaje się wpływ zwłaszcza witaminy D, której rola jest w tej chwili szeroko analizowana zarówno w procesach związanych z prokreacją jak i w procesach chorobowych takich jak endometrioza, mięśniaki macicy czy zespół policystycznych jajników.

Przedstawiona do oceny rozprawa doktorska ma klasyczny układ. Liczy 127 stron i składa się z typowych rozdziałów (wstęp, cel, materiały i metody, wyniki badań, dyskusja, wnioski, streszczenie w języku polskim i angielskim, bibliografia) oraz dodatkowo spis tabel i rycin. W pracy umieszczony jest także wykaz użytych skrótów, który ułatwia lekturę tekstu.

Pod względem redakcyjnym praca wykonana jest bardzo starannie. Napisana jest poprawnym i przystępnym językiem. Piśmiennictwo w zawarte w pracy w liczbie 201 pozycji jest w pełni aktualne, zawiera 2 starsze pozycje z roku 1986 i 1988.

W rozdziale „Wstęp” autorka w szczegółowy oraz dogłębny sposób scharakteryzowała definicję, epidemiologię oraz przyczyny niepłodności. W rozdziale tym autorka cytując pozycję piśmiennictwa z 1997 roku wyodrębnia przyczynę hormonalną i jajnikową niepłodności, do której zalicza PCOS. Wydaje się, iż bardziej zasadnym byłoby zastosowanie nowszego podziału, zawartego na przykład w Rekomendacjach Diagnostyki i Leczenie Niepłodności wg PTMRIE z 2018 r, który wyróżnia zaburzenia



UNIwersytet Jagielloński  
COLLEGIUM MEDICUM

owulacji jako jedną z przyczyn niepłodności, zaliczając do nich również PCOS. Używanie terminu niepłodność jajnikowa wydaje się być już nieaktualne.

Autorka w sposób rzetelny oraz bardzo szczegółowy opisała poszczególne witaminy rozpuszczalne w tłuszczach jak również ich rolę w patogenezie niepłodności oraz chorób z nią związanych. Dodatkowo informacje te zostały zilustrowane licznymi rycinami. Rozdział „Wstęp” doskonale wprowadza czytelnika w sferę zagadnień stanowiących istotę badań prowadzonych przez Doktorantkę

W rozdziale „Cel pracy” magister Patrycja Maria Skowrońska określa kierunek swoich badań, który dotyczy stworzenia predykcyjnego modelu oceny płodności pacjentek odzwierciedlonej w jakości i potencjale rozwojowym komórek jajowych uzyskanych w procesie zapłodnienia pozaustrojowego, w oparciu o stężenie witamin A, D, E i K w płynie pęcherzykowym. W 5 poprawnie sformułowanych, logicznych i przejrzystych punktach formułuje zadania badawcze, które dotyczą: stworzenia metody oznaczania stężeń analizowanych witamin w surowicy oraz płynie pęcherzykowym z zastosowaniem chromatografii oddziaływań hydrofilowych w połączeniu z detektorem masy, wyposażonym w źródło jonów z elektrorozpylaniem i kwadrupolowy analizator masy, analizy stężeń witamin A, D, E i K oraz AMH w płynie pęcherzykowym oraz surowicy krwi a następnie ocena wpływu witamin na jakość pobranych komórek jajowych oraz ich potencjał rozwojowy. Autorka oceniała również wpływ stężeń poszczególnych witamin na stężenie AMH w płynie pęcherzykowym i surowicy krwi.

W rozdziale „Materiały i metody” Doktorantka dokonuje szczegółowej prezentacji materiału i metod wykorzystanych do badań. Grupę badanych pacjentek stanowiły kobiety poddane procedurze IVF w Klinice Leczenie Niepłodności INVICTA w Gdańsku, spełniające wymienione w pracy kryteria włączenia do badania. Ostatecznie do badania zakwalifikowano 50 pacjentek w wieku 26-47 lat. Pacjentki te poddawane zostały stymulacji stosując długi protokół z agonistą GnRh, przeprowadzana została punkcja pęcherzyków z pobraniem komórek jajowych a następnie ich zapłodnienie oraz transfer zarodków. Materiał do oceny stężeń witamin A, D, E i K oraz AMH stanowiły płyny pęcherzykowe pobrane indywidualnie ze wszystkich pęcherzyków wystymulowanych od zakwalifikowanych pacjentek. Dodatkowo od każdej pacjentki została pobrana krew celem analizy stężeń badanych czynników. Jednocześnie oceniana była jakość komórek jajowych oraz zarodków powstałych po ich zapłodnieniu. Wykorzystane przez Autorkę w pracy doktorskiej metody badawcze są różnorodne i nowoczesne.

Rozdział „Wyniki” ilustruje zarówno w formie opisowej jak i tabelarycznej efekty przeprowadzonych przez Autorkę badań. W rozdziale tym zawarta jest również dokładna analiza grupa badanych pacjentek. Jako recenzent muszę nadmienić, iż bardziej zasadne wydaje się umieszczenie tej informacji w rozdziale „Materiały i metody” - pozwalałoby to na dokładniejsze zapoznanie się z grupą badaną przed analizą uzyskanych wyników. Przeprowadzona analiza wykazała zróżnicowanie stężeń witamin rozpuszczalnych w tłuszczach pomiędzy pęcherzykami pobranymi od danej pacjentki. Nie stwierdzono korelacji pomiędzy stężeniami witamin w surowicy krwi a BMI, wiekiem i stężeniami FSH i LH. Taka korelacja nie wystąpiła również w przypadku pomiarów dokonywanych w płynie



UNIwersytet Jagielloński  
COLLEGIUM MEDICUM

pęcherzykowym. W badaniu stwierdzono obecność istotnie statystycznej, słabej, dodatniej korelacji między stężeniem witaminy D i AMH w płynie pęcherzykowym, która jednak nie występuje w surowicy. Określone zostały również różnice w stężeniach witamin rozpuszczalnych w tłuszczach w zależności od przyczyny niepłodności- stwierdzono, że pacjentki z endometriozą charakteryzowały się najniższymi stężeniami wszystkich witamin w płynie pęcherzykowym, z kolei pacjentki z niepłodnością idiopatyczną charakteryzowały się najwyższymi stężeniami wszystkich witamin rozpuszczalnych w tłuszczach. W rozdziale „Wyniki” szczegółowo opisana została również zależność między stężeniami witamin rozpuszczalnych w tłuszczach a liczbą uzyskanych oocytów, skutecznością zapłodnienia pozaustrojowego oraz osiągnięciem klinicznej ciąży. W dwóch pierwszych przypadkach wykazano istotną rolę witaminy A, E i D. W ostatnim przypadku – uzyskaniu klinicznej ciąży – autorka nie wykazała istotnie statystycznych różnic, należy jednak zaznaczyć, że analizie poddanych zostało tylko 27 z 50 pacjentek włączonych do badania, u tych pacjentek został przeprowadzony transfer zarodków.

Wyniki pracy doktorskiej zostały przez autorkę szczegółowo zilustrowane licznymi wykresami oraz przedstawione w tabelach.

Rozprawę kończy rozdział „Dyskusja”, którą Autorka oparła o liczne pozycje piśmiennictwa. W dyskusji magister Patrycja Maria Skowrońska szczegółowo analizuje uzyskane przez siebie wyniki i porównuje je z rezultatami innych Autorów. W dyskusji Autorka podkreśla innowacyjność zaprojektowanego przez siebie badania stosując metodę pobierania oraz analizy płynu pęcherzykowego pobranego ze wszystkich uzyskanych w trakcie stymulacji pęcherzyków oraz możliwość jego zastosowania jako markera do selekcji komórek jajowych w procesie zapłodnienia pozaustrojowego.

Rozprawę doktorską podsumowuje 9 konkretnych wniosków, które stanowią odpowiedzi na zawarte w celach pracy pytania oraz dodatkowo określają możliwy przyszły kierunek badań doktorantki, dotyczący selekcji komórek jajowych oraz oceny jakości zarodków.

Jako recenzent muszę stwierdzić, iż użycie w pracy terminu „relatywnie młode kobiety” w odniesieniu do grupy wiekowej, której dolny przedział wiekowy to 47 lat wydaje się niewłaściwe- wiek znacznie wpływa na poziom AMH, a po 37 roku życia rezerwa jajnikowa gwałtownie się obniża. Być może bardziej odpowiednie byłoby porównanie grupy bardziej jednorodnej jeśli chodzi o wiek, zwłaszcza w kontekście analizy wartości AMH.

Kończąc moją recenzję, stwierdzam, że temat recenzowanej rozprawy jest interesujący i ambitny, a praca ma dużą wartość poznawczą. Autorka dowiodła umiejętności prowadzenia badań naukowych i rozwiązywania problemów naukowych.

Podsumowując, przedstawiona do recenzji rozprawa doktorska pt. „Ocena płodności pacjentek w zależności od poziomu witaminy D oraz innych witamin rozpuszczalnych w tłuszczach, w płynie pęcherzykowym w pęcherzykach jajnikowych oraz osoczu”



UNIwersytet Jagielloński  
COLLEGIUM MEDICUM

spełnia warunki określone w art.13 ustawy z dnia 14 marca 2003r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki 9Dz.U. nr 65, poz. 595 z póź. zm.),

Wnoszę do Wysokiej Rady Wydziału Nauk o Zdrowiu z Instytutem Medycyny Morskiej i Tropikalnej w Gdańsku o dopuszczenie magister Patrycji Marii Skowrońskiej do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Katedra Ginekologii i Położnictwa UJ CM  
Klinika Endokrynologii Ginekologicznej

*prof. dr hab. n. med. Robert Jach*  
kierownik Kliniki