

Kierownik Oddziału Ginekologii
i Ośrodka Medycznie Wspomaganej
Prokreacji – Szpital Gameta Łódź
ul. Rudzka 34/36
95-030 Rzgów k/Łodzi
Prof. nadzw. Mazowieckiej Uczelni
Publicznej

Recenzja rozprawy doktorskiej

Pani Natalii Cybulskiej

**pt. Ocena technik wspomagających oraz czynników
prognostycznych dla rozwoju zarodka do stadium
blastocysty oraz dla skuteczności procesu implantacji
w procedurach zapłodnienia pozaustrojowego.**

Niepłodność jest uznana przez Światowa Organizację Zdrowia za chorobę społeczną. W zależności od przyczyn może być leczona różnymi metodami. Spośród nich najbardziej popularne są metody medycznie wspomaganej prokreacji. Według ostatnich danych liczba procedur wzrasta rok do roku o ponad 10%, obecnie w Europie wykonuje się ponad 1 milion prób pozaustrojowego zapłodnienia rocznie. Od 1978 roku na Świecie urodziło się dzięki tej metodzie ponad 8 milionów dzieci a w 2010 roku za opracowanie leczenia niepłodności metodą invitro Robert Edwards otrzymał nagrodę Nobla.

Przez ponad 40 lat procedura pozaustrojowego zapłodnienia przyczyniła się również do lepszego poznania fizjologii zapłodnienia oraz wczesnych etapów rozwoju zarodków. Jednoznacznie wykazano, że komórki rozrodcze i zarodki różnią się od siebie potencjałem rozwojowym. Konsekwencją tego są różnice w szansach na ciążę, ryzyku straty ciąży oraz szansach na urodzenie zdrowego dziecka. W związku z tym nadal poszukiwane czynniki predykcyjne oraz metody, które w sposób najmniej

inwazyjny mogą przyczynić się do wyboru prawidłowego zarodka. Ma to na celu zwiększenie szansy na ciążę a dzięki temu skrócenie czasu i kosztów leczenia oraz co najważniejsze zminimalizowania stresu i ryzyka powikłań u pacjentów.

Tym bardziej interesujący jest temat dysertacji, która została mi przedstawiona do oceny przez Wysoką Radę Wydziału Nauk o Zdrowiu Uniwersytetu Medycznego im. Piastów Śląskich we Wrocławiu.

Praca składa się ze 127 stron i została podzielona na 9 rozdziałów zgodnie z przyjętymi zasadami. Na początku doktorantka zamieściła czytelny spis treści. Praca kolejno zawiera: wstęp, cel pracy, materiał i metodykę, wyniki badań, dyskusję, wnioski, piśmiennictwo, streszczenie w języku polskim i angielskim oraz spisy tabel i rycin.

Wstęp

We wstępie przedstawiono istotne z punktu widzenia pracy etapy procedury zapłodnienia pozaustrojowego. Pani Natalia Cybulska wyczerpująco opisała nieprawidłowości morfologiczne oraz zasady oceny komórek jajowych. Następnie opisała proces spermatogenezy, nieprawidłowości morfologiczne i funkcjonalne plemników oraz jedną z metod selekcji dojrzałych plemników opartą o obecność plemnikowych receptorów dla kwasu hialuronowego. Doktorantka przedstawiła również wpływ różnych czynników między innymi takich jak wiek, BMI, endometrioza na jakość komórek rozrodczych.

W dalszej części wstępu opisano proces implantacji oraz zasady oceny potencjału rozwojowego zarodka podczas leczenia niepłodności metodą pozaustrojowego zapłodnienia. Pani Natalia Cybulska zwróciła również uwagę na dodatkową procedurę embriologiczną (tzw. Assited Hatching - wspomaganie wylęgania zarodka) która w szczególnych sytuacjach potencjalnie może zwiększać szansę na ciążę.

Kriokonserwacja zarodków jest obecnie standardową procedurą podczas IVF a u około 20% pacjentów postępowaniem z wyboru w celu zwiększenia szansy na ciążę. Doktorantka szczegółowo opisała nowoczesne metody mrożenia zarodków oraz konieczne w codziennej praktyce embriologicznej zasady kontroli jakości na podstawie tzw. KPI – kluczowych wskaźników efektywności.

Należy zauważyć, że doktorantka we wstępie opisała IVF jako najskuteczniejszą metodę leczenia niepłodności. Jest to stwierdzenie prawdziwe jednak celem doprecyzowania warto by dodać, że w przeliczeniu na cykl (próbę) leczenia i tylko wtedy, gdy są do tej metody wskazania medyczne.

Należy zaznaczyć, że praca została wzbogacona schematami i licznymi fotografiami mikroskopowymi autorstwa Doktorantki. Fakt ten potwierdza, że Pani Natalia Cybulska jest bardzo zaangażowana i ma duże doświadczenie w codziennej pracy embriologicznej.

Cel pracy

Doktorantka założyła w swojej pracy dość liczne cele o ważnym znaczeniu naukowym i praktycznym. Przeprowadzone badania miały odpowiedzieć na pytania czy są obecne czynniki prognostyczne, mające istotny wpływ na rozwój zarodka do stadium blastocysty i na jego zdolność do implantacji oraz ocenę wpływu wybranych technik wspomagających na skuteczność procedur IVF.

Odpowiedź na te pytania Pani Natalia Cybulska postanowiła zrealizować poprzez niżej wymienione cele szczegółowe:

1. Ustalenie wpływu czynników antropometrycznych oraz klinicznych na ilość i jakość uzyskanych komórek jajowych, skuteczność zapłodnienia, rozwój zarodka do 3 doby hodowli oraz rozwój zarodka do stadium blastocysty.
2. Ustalenie wpływu cech morfologicznych komórek jajowych na rozwój zarodka do 3 doby hodowli oraz rozwój zarodka do stadium blastocysty.
3. Ustalenie wpływu metody selekcji plemników zastosowanej podczas procedury mikroiniekcji plemnika do komórki jajowej (pICSI vs ICSI).
4. Ustalenie wpływu cech morfologicznych zarodków obserwowanych w 3 dobie hodowli na rozwój zarodka do stadium blastocysty.
5. Ustalenie wpływu czynników antropometrycznych i klinicznych na stopień implantacji blastocyst.
6. Ustalenie wpływu rodzaju zastosowanej procedury transferu oraz poziomu bezpieczeństwa techniki krioprezervacji (transfer świeżych zarodków vs

transfer zarodków kriokonserwowanych metodą witryfikacji) na skuteczność implantacji blastocyst.

7. Sprawdzenie wpływ techniki wspomaganego wyklucia zarodka na stopień implantacji blastocyst.
8. Ustalenie wpływu i zależności pomiędzy jakościowymi cechami morfologicznymi komórek jajowych oraz zarodków w 3 i 5/7 dobie hodowli, a skutecznością procesu implantacji blastocyst.
9. Stworzenie schematu obrazującego wpływ istotnych statystycznie czynników prognostycznych lub metod wspomagających procedury zapłodnienia pozaustrojowego na rozwój zarodka i stopień implantacji, będący podstawą wizualizacji wykrytych zależności w konsultacjach z parą niepłodną.

Materiał i metody

Retrospektywnym badaniem objęto 211 procedur zapłodnienia pozaustrojowego metodą ICSI oraz 234 zabiegi transferu zarodków kriokonserwowanych metodą witryfikacji.

Łącznie w pracy przeanalizowano 445 przypadków procedur, przeprowadzonych wśród par opolskiego ośrodka leczenia niepłodności GMW – Embrio w okresie 3 lat.

Doktorantka szczegółowo opisuje dobrze dobraną pod względem klinicznym i statystycznym metodę badawczą. Zamieszczenie w tym rozdziale schematów jest cennym dodatkiem, który może ułatwiać analizę tekstu.

Wyniki

Wyniki zostały opisane w 5 podrozdziałach. Dodatkowo zostały czytelnie przedstawione w postaci 20 rycin i 6 tabel.

W pierwszym podrozdziale opisano charakterystykę kliniczną pacjentów.

W kolejnych rozdziałach opisano wyniki analizy:

- kontroli jakości w odniesieniu do KPI opisanych w SOP (standardowych procedurach operacyjnych) na podstawie zaleceń ESHRE,
- czynników prognostycznych dla rozwoju i implantacji zarodka.

Dyskusja

Dyskusja została przeprowadzona wyczerpująco i rzetelnie. Doktorantka szczegółowo przeanalizowała otrzymane wyniki a następnie porównała je z aktualnie dostępnym piśmiennictwem. Doktorantka trafnie zauważyła, że średni wiek kobiet rodzących w Polsce zwiększył się istotnie od lat 90 tych. Czytelniejsze było by bardziej precyzyjne przedstawienie tego bardzo istotnego problemu. Na przykład poprzez średni wiek kobiety, która rodzi swoje pierwsze dziecko w Polsce w 2016 roku (27,2 lata) i porównanie tego średniej z roku 1990 zamiast przedstawienie średniej urodzenia dziecka w formie „od 30 do 34 roku życia”.

Wnioski

Przedstawione wnioski są zgodne z celami pracy i wynikają z przeprowadzonych badań.

Wniosek główny:

Następujące czynniki ryzyka mają wpływ procesy embriologiczne i szanse na ciążę: wskaźnik antropometryczny BMI, endometrioza, jakość morfologiczna zarodka w 3 dobie hodowli, stopień ekspansji oraz morfologiczna ocena zarodka przenoszonego do jamy macicy w 5 dobie hodowli.

Doktorantka przedstawiła dodatkowo dość dużą liczbę 12 obszernych wniosków szczegółowych które mogły by być przedstawione w nieco uproszczonej i krótszej formie.

1. Zwiększający się wiek kobiet przystępujących do procedury zapłodnienia *in vitro* jest istotnym statystycznie wyznacznikiem spadku liczby pobranych komórek jajowych. Nie wykazano natomiast statystycznie istotnego wpływu wieku pacjentek na: morfologiczną ocenę jakości oocytów; ilość, jakość oraz tempo podziałów zarodków zarówno w 3 jak i 5 dobie hodowli; stopień implantacji zarodka oraz odsetek uzyskanych ciąż klinicznych u pacjentek podchodzących do procedury transferu, bez względu na jego rodzaj.
2. Rosnąca liczba pobranych dojrzałych komórek jajowych (MII) jest silnym predyktorem, od którego bezpośrednio zależy wzrost liczby zarodków uzyskanych w hodowli. Morfologiczna jakość oocytów, nie stanowi istotnego czynnika predykcyjnego, w stosunku do omawianych wartości – ilości

zarodków, jakości oraz tempa ich podziałów na każdym omawianym etapie hodowli.

3. Statystycznie istotnym predyktorem wpływającym na efekt zdarzeń embriologicznych jest wskaźnik antropometryczny BMI. Wraz ze wzrostem wartości BMI u kobiety obserwuje się redukcję liczby pobranych dojrzałych komórek jajowych oraz spadek ich jakości morfologicznej, spadek liczby prawidłowo zapłodnionych oocytów (2PN), liczby zarodków w 3 dobie hodowli oraz liczby blastocyst o najwyższej jakości morfologicznej (TQ) uzyskanych w 5 – 7 dobie hodowli.
4. Wśród analizowanych przyczyn leczenia niepłodności najbardziej istotnym statystycznie czynnikiem jest endometrioza. Jej zdiagnozowana obecność redukuje liczbę wszystkich pobranych komórek MII oraz liczbę dobrej jakości komórek jajowych ale przede wszystkim ogranicza liczbę uzyskanych w 5 dobie hodowli blastocyst TQ. Drugim w kolejności istotnym statystycznie predyktorem jest męski czynnik niepłodności, który może być reduktorem liczby zarodków uzyskanych w 3 dobie hodowli, nie wykazuje jednak podobnego wpływu w stosunku do jakości morfologicznej pozostałych zarodków. Największe szanse na uzyskanie najwyższej liczby zarodków w 3 dobie hodowli oraz zarodków o najwyższej jakości morfologicznej wykazano przy czynniku idiopatycznym.
5. Rodzaj metody selekcji plemników zastosowanej podczas procedury ICSI należy do statystycznie istotnych czynników mających wpływ na liczbę oraz jakość zarodków uzyskanych w 3 dobie hodowli. Zastosowanie procedury pICSI vs ICSI generuje wzrost liczby zarodków TQ w 3 dobie hodowli.
6. Klasa jakościowa zarodka w 3 dobie hodowli jest statystycznie istotnym predyktorem wpływającym na jakość zarówno wężła zarodowego (ICM) jak i trofektodermi (TE). Spadek w ocenie morfologicznej jakości zarodka powoduje redukcję szansy na uzyskanie blastocysty o najlepszej ocenie ICM i TE.
7. Tempo podziałów zarodka w 3 dniu hodowli jest istotnym czynnikiem przekładającym się na efekt kliniczny. Opóźniony postęp rozwojowy powoduje redukcję szans na uzyskanie ogólnej liczby blastocyst TQ oraz, w ujęciu szczegółowym, blastocyst o ICM A jak i TE A.

8. Silnym, znamionym statystycznie reduktorem szansy uzyskania w hodowli blastocysty o ICM A lub o TE A jest wystąpienie niesymetrycznych blastomerów w zarodku w 3 dobie hodowli.
9. Procedura mikroobjętościowej witrifikacji i rozmrażania zarodka nie wykazuje negatywnego wpływu na stopień implantacji oraz odsetek ciąż klinicznych. Nie wykazano różnic statystycznych w stopniu implantacji zarodka oraz odsetku ciąż klinicznych w zależności od rodzaju wykonanego transferu (ET vs VET).
10. Zastosowana metoda wspomaganego wyklucia zarodka (AH) pozwala uzyskać stopień implantacji oraz wskaźnik ciąż klinicznych porównywalny z grupą gdzie proces wylęgania zaszedł samoczynnie.
11. Bezpośrednim, istotnym statystycznie predyktorem, wpływającym na wzrost stopnia implantacji zarodka oraz podniesienie częstości uzyskanych ciąż klinicznych jest wzrost liczby blastocyst o najwyższej ocenie jakościowej (TQ).
12. Wzrost jakości trofektoderm (TE A) oraz stopnia ekspansji blastocysty przenoszonej do jamy macicy podczas świeżego transferu, stanowią silne, istotne statystycznie czynniki wpływające się na wzrost stopnia implantacji zarodka oraz wskaźnika ciąż klinicznych. W stosunku do oceny jakości węzła zarodkowego nie wykazano istotności statystycznej w odniesieniu do efektów klinicznych.

Streszczenie

Streszczenie w języku polskim i języku angielskim umożliwia szybkie zorientowanie się w temacie, celach, metodyce, wynikach oraz wnioskach wynikających z pracy.

Piśmiennictwo

Rozdział ten zawiera prawidłowo dobraną, bardzo obszerną bibliografię składającą się z 202 pozycji piśmiennictwa uporządkowanych zgodnie z kolejnością zamieszczenia w tekście.

Podsumowanie recenzji

Znajomość czynników predykcyjnych dla powodzenia leczenia jest niezwykle istotna, ponieważ może poprawić efektywność leczenia niepłodności. Dodatkowo może być cenną informacją poprawiającą skuteczność profilaktyki.

Pani Natalia Cybulska wykazała dobrą znajomość problemu leczenia niepłodności metodą pozaustrojowego zapłodnienia. Wykonana przed Doktorantką praca, w której zgromadziła dużo danych zarówno klinicznych jak i embriologicznych jest dowodem na umiejętność dobrej współpracy pomiędzy lekarzami i embriologami.

Przedstawiona mi do recenzji rozprawa doktorska w mojej opinii spełnia warunki stawiane rozprawom na stopień doktora nauk medycznych zgodnie z aktualnie obowiązującym w prawem. Na tej podstawie pozwalam sobie przedstawić Wysokiej Radzie Wydziału Nauk o Zdrowiu Uniwersytetu Medycznego im. Piastów Śląskich we Wrocławiu wniosek o dopuszczenie Pani Natalii Cybulskiej do dalszych etapów przewodu doktorskiego.



prof. nadzw. dr hab. n. med.
Michał Radwan
specjalista ginekologii i położnictwa
specjalista endokrynologii
ginekologicznej i rozrodczości
9731361