

**NASTAVNO NAUČNOM VEĆU MEDICINSKOG FAKULTETA  
UNIVERZITETA U BEOGRDU**

Na sednici **Nastavno-naučnog veća** Medicinskog fakulteta u Beogradu, održanoj dana 18.03.2024. godine, broj 19/XXII-3/3-JP<sup>H</sup>, imenovana je komisija za ocenu završene doktorske disertacije pod naslovom:

**„Efekti kontrolisane ovarijalne stimulacije na nivo azot-monoksida u serumu i folikularnoj tečnosti pacijentkinja u procesu vantelesne oplodnje”**

kandidata dr Jovane Radaković Ćosić,

zaposlenoj na Ginekološko akušerskoj klinici „Narodni Front” u Beogradu.

Mentor 1: prof dr Željko Miković, redovni profesor Medicinskog fakulteta u Beogradu

Mentor 2: dr sci med Milan Perović, viši naučni saradnik, GAK „Narodni Front”

Komisija za ocenu završene doktorske disertacije imenovana je u sastavu:

1. Prof. dr Svetlana Dragojević Dikić, redovni profesor Medicinskog fakulteta u Beogradu
2. Doc. dr Lidija Tulić, docent Medicinskog fakulteta u Beogradu
3. Doc dr Jovana Paunović Pantić, docent Medicinskog fakulteta u Beogradu
4. Esma Isenović, naučni savetnik, Institut za nuklearne nauke "Vinča", Institut od nacionalnog značaja za RS, Univerzitet u Beogradu
5. Artur Bjelica, redovni profesor Medicinskog fakulteta u Novom Sadu

Na osnovu analize priložene doktorske disertacije, komisija za ocenu završene doktorske disertacije jednoglasno podnosi Naučnom veću Medicinskog fakulteta sledeći

**IZVEŠTAJ**

**A) Prikaz sadržaja doktorke disertacije**

Doktorska disertacija dr Jovane Radaković Ćosić napisana je na ukupno 96 strana i podeljena je na sledeća poglavlja: uvod, ciljevi rada, materijal i metode, rezultati, diskusija, zaključci i literatura. U disertaciji se nalazi ukupno 11 tabela, 25 grafikona i 24 slike. Doktorska disertacija

sadrži sažetak na srpskom i engleskom jeziku, zahvalnicu, biografiju kandidata, podatke o komisiji i spisak skraćenica korišćenih u tekstu.

U **uvodu** ove doktorske disertacije je precizno i didaktički predstavljen problem neplodnosti, kao globalnog zdravstvenog, psihološkog, sociološkog i ekonomskog izazova koji u proteklim decenijama pokazuje konstantni trend rasta prevalence. Nakon preciznog definisanja opšteg pojma neplodnosti kao patološkog entiteta, sveobuhvatnog prikaza njegove klasifikacije i multifaktorijalne etiopatogeneze, sistematično i detaljno su predočeni epidemiološki podaci kroz 9 podnaslovnih tekstualnih celina koje su efektno dopunjene sa pet slika i grafikona. Nakon sažetog, ali sveobuhvatnog prikaza dijagnostike neplodnosti, uvod studiozno navodi raspoložive terapijske modalitete u lečenju infertiliteta. U ovom delu poseban osvrt je stavljen na vantelesnu oplodnju, a s obzirom da se ova disertacija bavi efektima kontrolisane ovarijalne stimulacije na nivo azot-monoksida u serumu i folikularnoj tečnosti žena podvrgnutih procesu vantelesne oplodnje. Ovaj deo uvoda umešno je i skladno napisan kroz 10 podnaslovnih tekstualnih celina i upotpunjen sa 13 slika i grafikona. Opisom morfoloških i endokrinih procesa u sklopu fizioloških mehanizama ovarijalnog i endometrijalnog ciklusa i gametogeneze kroz šest podnaslovnih tekstualnih celina i tri slike dat je vešt nagoveštaj uloge i značaja azot monoksida u reproduktivnim procesima, bilo da se radi o fiziologiji bilo o postupku vantelesne oplodnje. Deo uvoda posvećen azot monoksidu kroz 8 tekstualnih podnaslovnih celina i 3 slike prezentuje dosadašnja naučna saznanja o njegovom značaju za biološke, fiziološke i patološke procese u reproduktivnom sistemu, o uticaju na jajne ćelije, spermatozoide, steroidogenezu, rast i atreziju folikula, ovulaciju i embriogenezu. Na prethodno opisan način, uvod disertacije je uspeo da jasno predstavi, definiše i opiše predmet istraživanja disertacije. U uvodu doktorske disertacije su detaljno predočeni literaturni podaci u oblasti tematike disertacije predstavili su istorijski i naučni kontekst i pružili obrazloženje za ispitivanje efekata kontrolisane ovarijalne stimulacije na nivo azot-monoksida u serumu i folikularnoj tečnosti u procesu vantelesne oplodnje.

**Ciljevi rada** su jasni i precizno definisani. Sastoje se od analize efekata serumskih koncentracija NO pre i posle kontrolisane ovarijalne stimulacije i koncentracija NO u folikularnoj tečnosti nakon kontrolisane ovarijalne stimulacije na broj dobijenih jajnih ćelija, kvalitetnih jajnih ćelija, dobijenih embriona, kvalitetnih embriona i na ishode vantelesne oplodnje, kao što su stope biohemijskih i kliničkih trudnoća. Analiza efekata

serumskih i koncentracija NO u folikularnoj tečnosti obavljena je u celokupnoj populaciji ispitanica, ali i unutargrupno, među ispitanicama podvrgnutim različitim protokolima stimulacije jajnika, dugom GnRH agonist protokolu i kratkom, GnRH antagonist protokolu. Ciljevi rada ove doktorske disertacije jasno pokazuju kvalitet i kompetentnost kandidata. Načinom prezentovanja ciljeva ove doktorske disertacije dr Jovana Radaković Čosić je jasno opisala šta se želi postići izvođenjem ove doktorske disertacije i kako će se ti ciljevi ostvariti. Ciljevi disertacije su specifični i jasno definisani i ne ostavljaju prostor za eventualne nejasnoće u akcijama preduzetim u cilju njihovog ostvarivanja. Ciljevi doktorske disertacije su fokusirani na trenutne i kratkoročne ishode vantelesne oplodnje i napisani su u vidu numerisane liste ciljeva.

U poglavlju **materijal i metode** detaljno su opisani metodološki postupci korišćeni pri izradi disertacije. U ovom poglavlju jasno je definisan tip, odnosno dizajn istraživanja, kao opservacione studije preseka. Precizno su navedene institucije u kojoj je istraživanje sprovedeno. Istraživanje je sprovedeno u Ginekološko-akušerskoj Klinici "Narodni front", Beograd, a prikupljeni biološki materijal (folikularna tečnost i serum ispitanica i semena tečnost njihovih partnera korišćena za proces vantelesne oplodnje) analiziran je u Laboratoriji za embriologiju Odeljenja za artificijelne tehnologije sa dnevnom bolnicom i Laboratoriji Odeljenja medicinske biohemije Klinike za ginekologiju i akušerstvo "Narodni front" i u Laboratoriji za radiobiologiju i molekularnu genetiku Instituta za nuklearne nauke "Vinča" Univerziteta u Beogradu, Instituta od nacionalnog značaja Republike Srbije. U poglavlju materijal i metode su pruženi podaci vezani za trajanje studije i druge vremenski vezane faktore. Pored toga, taksativno i detaljno su opisani kriterijumi za uključenje u studiju i kriterijumi za isključenje iz studije. Precizno je definisano vreme, način i procedura uzimanja ispitivanih tečnosti za analizu, ali i metod prikupljanja sociodemografskih, kliničkih i laboratorijskih podataka o ispitanicama. Ukratko, od laboratorijskih parametara određivani su nivoi serumskog E2 pre aspiracije jajnih ćelija, kao i NO u FT i serumu ispitanica pre i nakon procesa KOS. Metoda obrađivanja NO podrazumevala je određivanje koncentracije nitrita i nitrata, kao produkata NO u serumu i FT. Merenje je vršeno korišćenjem NO<sub>3</sub><sup>-</sup>/NO<sub>2</sub><sup>-</sup> kompleta (Total Nitric Oxide and Nitrate/Nitrite Parameter Assay Kit, R&D Systems, USA) prema uputstvu proizvođača. Određivanje koncentracije rađeno je reakcijom nitrat reduktaze i Griess-ovom reakcijom. Kolorimetrijskom metodom određivana je koncentracija nitrita merenjem apsorbance nastalog azo jedinjenja. Merenje nivoa E2 određivan je hemiluminescentnim enzimskim imunoesejom, Elecsys immunoanalyser (Roche Diagnostics, Mannheim,

Germany). Intra-esej i inter-esej koeficijenti varijacije bili su 0,5% i 0,1%. U ovom poglavlju je jasno izneta strategija i okviri uzorkovanja ispitanica, a na osnovu izračunate snage studije i determinisanja i izračunavanja veličine uzorka. Pored toga objašnjene su specifičnosti ispitanica i ostalih učesnika u istraživanju, kao i korišćenih materijala. U delu poglavlja koje se odnosi na korišćene statističke metode prikazane su sve korišćene deskriptivne ali i analitičke statističke metode i procedure merenja posmatranih ishoda. U ovom poglavlju se jasno navodi da je disertacija sprovedena u skladu sa principima Helsinške deklaracije i odobrena je od strane Etičkog komiteta Medicinskog fakulteta Univerziteta u Beogradu i Etičkog komiteta Ginekološko-akušerske Klinike "Narodni front" (broj odluke 24/42-1). Pre uključanja u studiju, sve ispitanice i njihovi partneri u procesu VTO su dali pisani pristanak nakon detaljnog informisanja o prirodi i svrsi studije, a informisanje je obavljeno u pisanoj i usmenoj formi.

U poglavlju **rezultati** detaljno su opisani i jasno predstavljeni svi dobijeni rezultati.

**Diskusija** je napisana jasno i pregledno, uz prikaz podataka drugih istraživanja sa uporednim pregledom dobijenih rezultata doktorske disertacije.

**Zaključci** sažeto prikazuju najvažnije nalaze koji su proistekli iz rezultata rada. Korišćena **literatura** sadrži spisak od 287 referenci.

## **B) Provera originalnosti doktorske disertacije**

Na osnovu Pravilnika o postupku provere originalnosti doktorskih disertacija koje se brane na Univerzitetu u Beogradu i nalaza u izveštaju iz programa iThenticate kojim je izvršena provera originalnosti doktorske disertacije: „Efekti kontrolisane ovarijalne stimulacije na nivo azot-monoksida u serumu i folikularnoj tečnosti pacijentkinja u procesu vantelesne oplodnje”, autora dr Jovane Radaković Ćosić, utvrđeno je podudaranje teksta 6%. Ovaj stepen podudarnosti je posledica prethodno publikovanih rezultata doktorandovih istraživanja, koji su proistekli iz disertacije, opšte-prihvaćenih fraza, kao i opisa standardnih procedura izvođenja eksperimanata, što je u skladu sa članom 9. Pravilnika o postupku provere originalnosti doktorskih disertacija koje se brane na Univerzitetu u Beogradu („Glasnik Univerziteta u Beogradu“, broj 204/18).

### C) Kratak opis postignutih rezultata

Disertacija zasnovana na studiji preseka analizirala je 94 infertilna para, prosečnog trajanja infertiliteta 5 godina, sa primarnim infertilitetom u 73 i sekundarnim u 21 ispitanice. Muški uzrok infertiliteta bio je prisutan kod 41 (44%) para, oboljenja jajovoda u 15 (16%), endometrioza u 9 (10%), policistični jajnici u 11 (12%), slaba ovarijalna rezerva u tri (3%), oboljenja materice i grlića u jedne (1%), a idiopatski infertilitet kod 13 (14%) ispitanica. Policistični jajnici i endometrioza su istovremeno bili prisutni u jedne (1%) ispitanice. Prosečno trajanje KOS je 10.5 dana (u dugom protokolu 11.5, a kratkom 10 dana). Prosečan broj aspiriranih jajnih ćelija je 8, kvalitetnih jajnih ćelija 6, dobijenih embriona 5 i kvalitetnih embriona 3. Prosečan nivo E2 na dan trigger injekcije je bio 7726 pmol/l, serumskog NO pre KOS 126.80  $\mu$ M, serumskog NO nakon KOS 130.55  $\mu$ M, dok je u FT iznosio 305.57  $\mu$ M. Biohemijska trudnoća je ostvarena kod 46 (49%) ispitanica, a klinička kod 38 (40%) ispitanica.

Negativna korelacija je registrovana između serumskog NO pre KOS i serumskog E2 ( $\rho=-0.297$ ;  $p<0.01$ ), serumskog NO posle KOS i serumskog E2 ( $r=-0.288$ ;  $p<0.01$ ), nivoa NO u FT i serumskog E2 ( $r=-0.258$ ;  $p<0.01$ ). Pozitivna korelacija je zabeležena između serumskog NO pre KOS i serumskog NO posle KOS ( $\rho=+0.513$ ;  $p<0.01$ ), serumskog NO i nivoa NO u FT ( $\rho=+0.513$ ;  $p<0.01$ ), serumskog NO posle KOS i nivoa NO u FT ( $r=+0.410$ ;  $p<0.01$ ).

Serumski E2 pozitivno koreliše sa brojem dobijenih jajnih ćelija ( $r=+0.687$ ;  $p<0.01$ ), kvalitetnih oocita ( $r=+0.552$ ;  $p<0.01$ ), embriona ( $r=+0.515$ ;  $p<0.01$ ), kvalitetnih embriona ( $\rho=+0.405$ ;  $p<0.01$ ). Serumski i biomarkeri u FT (serumski E2, serumski NO pre i nakon KOS, NO u FT) ne utiču na stope biohemijskih i kliničkih trudnoća i stope živorođenosti nakon VTO.

Dug protokol stimulacije je primenjen u 35, a kratak u 59 ispitanica. Ispitanice dve studijske grupe se nisu razlikovale u telesnoj visini i masi, obrazovnom, bračnom i pušačkom statusu, životnoj dobi u momentu prve menstruacije, karakteristikama ciklusa i indeksu telesne mase. Ispitanice sa kratkim protokolom su bile starije, kraćeg trajanja ciklusa u odnosu na one sa dugim protokolom (33 vs 38 godina,  $p<0.01$ ; 29 vs 28 dana,  $p<0.01$ ). U pacijentkinja sa dugim protokolom dobijen je veći broj jajnih ćelija (10 prema 7,  $p<0.01$ ), kvalitetnih jajnih ćelija (8 prema 5,  $p<0.01$ ), embriona (6 prema 4,  $p<0.01$ ), kvalitetnih embriona (4 prema 3,  $p<0.05$ ).

Serumske vrednosti E2 u grupi pacijentkinja sa dugim protokolom bile su veće u odnosu na grupu sa kratkim protokolom (10226 pmol/l prema 6243 pmol/l,  $p<0.01$ ). U dugom protokolu su zabeležene niže serumske vrednosti NO pre KOS (100.74  $\mu$ M prema 142.26  $\mu$ M,  $p<0.01$ ) i

NO posle KOS (87.62  $\mu\text{M}$  prema 156.02  $\mu\text{M}$ ,  $p < 0.01$ ). U grupi sa dugim protokolom zabeležene su niže vrednosti NO u FT (241.58  $\mu\text{M}$  prema 343.52  $\mu\text{M}$ ,  $p < 0.01$ ) u odnosu na kratki protokol.

Poređenjem dve grupe ispitanica, nije bilo značajne razlike u stopama kliničkih trudnoća (49% prema 36%,  $p > 0.05$ ) i stopama živorođenosti nakon VTO (43% prema 25%,  $p > 0.05$ ). U stopi biohemijskih trudnoća razlika je značajna (63% u grupi pacijentkinja stimulisanih dugim protokolom prema 41% u grupi pacijentkinja stimulisanih kratkim protokolom,  $p \leq 0.05$ ).

Kod ispitanica sa dugim protokolom postoji pozitivna korelacija između serumskog NO pre KOS i serumskog NO nakon KOS ( $r = +0.627$ ;  $p < 0.01$ ), serumskog NO pre KOS i nivoa NO u FT ( $r = +0.575$ ;  $p < 0.01$ ), serumskog NO posle KOS i nivoa NO u FT ( $r = +0.515$ ;  $p < 0.01$ ), dok korelacija nije nađena sa nivoima serumskog E2.

Kod ispitanica sa kratkim protokolom postoji pozitivna korelacija između serumskog NO pre KOS i serumskog NO nakon KOS ( $r = +0.261$ ;  $p < 0.05$ ), serumskog NO pre KOS i nivoa NO u FT ( $r = +0.315$ ;  $p < 0.01$ ). Nije detektovana korelacija nivoa serumskog NO posle KOS i nivoa NO u FT i serumskog E2.

Kod ispitanica stimulisanih dugim protokolom pozitivna korelacija je ustanovljena između serumskog E2 i broja jajnih ćelija ( $r = +0.408$ ;  $p \leq 0.01$ ), dok ona ne postoji u odnosu na ostale evaluirane karakteristike jajnih ćelija i embriona. Korelacija serumskog NO pre i posle KOS i nivoa NO u FT u odnosu na posmatrane karakteristike jajnih ćelija i embriona (broj jajnih ćelija, kvalitetnih jajnih ćelija, broj dobijenih embriona i kvalitetnih embriona) nije ustanovljena.

Kod ispitanica stimulisanih kratkim protokolom serumski E2 pozitivno korelira sa brojem jajnih ćelija ( $r = +0.695$ ;  $p < 0.01$ ), kvalitetnih jajnih ćelija ( $r = +0.572$ ;  $p < 0.01$ ), dobijenih embriona ( $r = +0.546$ ;  $p < 0.01$ ), kvalitetnih embriona ( $r = +0.472$ ;  $p < 0.01$ ).

U kratkom protokolu uočena je pozitivna korelacija serumskog NO nakon KOS sa brojem jajnih ćelija ( $r = +0.291$ ;  $p < 0.05$ ), kvalitetnih jajnih ćelija ( $r = +0.356$ ;  $p < 0.01$ ), dobijenih embriona ( $r = +0.329$ ;  $p < 0.01$ ), ali korelacija ne postoji sa brojem kvalitetnih embriona. Takođe, nema korelacije između serumskog NO pre KOS i nivoa NO u FT sa posmatranim karakteristikama jajnih ćelija (broj jajnih ćelija, broj kvalitetnih jajnih ćelija, broj embriona, broj kvalitetnih i broj vraćenih embriona). Nije dokazan statistički značajan uticaj serumskih i biomarkera FT (nivo serumskog E2, serumski NO pre i nakon KOS, NO u FT) na nastanak biohemijske, kliničke trudnoće, kliničke trudnoće nakon 12. nedelje gestacije, kao i porođaj kod ispitanica stimulisanih bilo dugim, bilo kratkim protokolom.

## **D) Usporedna analiza doktorske disertacije sa rezultatima iz literature**

Literaturni podaci o uticaju ženskih hormona na metabolizam NO i promeni hormonskog miljea nakon KOS su naveli dr Jovanu Radaković Ćosić da postavi hipotezu o uticaju KOS na serumske i nivoe NO u FT, kao i o korelaciji ovih nivoa sa brojem visokokvalitetnih oocita i embriona dobijenih tokom VTO. Prethodna istraživanja sprovedena u svetu jesu analizirala nivoe azot-monoksida u FT i serumu žena sa različitim etiološkim faktorima infertiliteta. Ovi nivoi su takođe poređeni između populacije trudnih žena nakon uspele procedure VTO i populaciji žena sa neuspehom VTO. Međutim, pristup dr Jovane Radaković Ćosić da se merenje nivoa azot-monoksida u ovim tečnostima koristi za predikciju ishoda KOS i VTO je jedinstven i do sada nije primenjen u zemlji, ali i globalno. Rezultati disertacije potvrđuju postavljenu hipotezu i ukazuju da merenje nivoa NO u serumu i FT može biti inovativan način za predikciju ishoda VTO i poboljšanje efikasnosti ove procedure.

Iako se VTO više decenija koristi, često ne znamo zašto neuspeh procedure VTO nastupi u slučajevima kada svi ishodi lečenja nagoveštavaju uspeh VTO-a. Na neuspeh VTO mogu da utiču endokrini disruptori životne sredine, genetske mutacije, endometrioza, hemoterapija, radijacija i upotreba duvana. Relevantni parametri koji takođe determinišu uspeh VTO su biohemijski i metabolički procesi koji utiču na kvalitet jajnih ćelija i dobijenih embriona. Morfološka i morfokinetička evaluacija embriona ne ukazuje na kvalitet molekularnih i biohemijskih procesa ključnih za sudbinu embriona nakon njegovog vraćanja u matericu žene postupkom embriotransfera (Gardner i saradnici, 2000; Basile i saradnici 2015). Danas se razvijaju analitičke invazivne i neinvazivne tehnike koje određuju nivo različitih biohemijskih i metaboličkih parametara za procenu energetskog metabolizma jajnih ćelija i embriona, određivanje oksidativnog stresa. Njihov cilj je pokušaj direktne procene kvaliteta metabolizma jajnih ćelija i embriona. Disertaciji su predhodile studije koje su ispitivale uticaj KOS na biohemijske parametre (fosfolipide i slobodne masne kiseline) u serumu i FT, a u sklopu oocitogeneze (Perović i saradnici, 2019). Sastav FT značajno utiče na kvalitet oocita, rezultat je sekrecije folikularnih granulosa ćelija i eksudacije plazme u folikularnu šupljinu. Zato se biohemijski parametri u serumu i folikularnoj tečnosti mogu upotrebiti kao biomarkeri i prediktori kvaliteta jajnih ćelija, embriona i uspeha VTO. Neke studije su u tom smislu koristile i metabolizam azot oksida u ovoj proceni (Pallisco i saradnici 2023). Pallisco i saradnici u te svrhe koristili merenje purina i pirimidina, dok je dr Jovana Radaković Ćosić nivo azot-monoksida evaluirala uz pomoć određivanja koncentracije nitrita i nitrata kao produkata azot-monoksida u serumu i FT. Pallisco i saradnici su svojim pristupom metabolizam azot oksida

koristili kao potencijalni marker za selekciju embriona za implantaciju, dok je dr Jovana Radaković Ćosić metabolizam azot oksida koristila i kao prediktor ishoda KOS i VTO, otkrivajući postojanje određenih korelacija između nivoa NO i pomenutih ishoda.

Rezultati disertacije ukazuju na postojanje negativne korelacije serumskih nivoa NO sa serumskim nivoima estradiola, što potvrđuje rezultate drugih studija da porast serumskih koncentracija NO inhibira sintezu steroida (uključujući i estrogene) u granulosa ćelijama folikula humanih jajnika (Rostamzadeh i saradnici, 2020). Kako su pilot studije optimalni način procene izvodljivosti bilo koje studije u punom obimu i procene potrebnih finansijskih, vremenskih i kadrovskih resursa (Thabane i saradnici, 2010), sprovođenje ove doktorske disertacije započeto je izvođenjem pilot studije, koje predstavlja prvo istraživanje efekata egzogenih gonadotropina primenjenih tokom KOS na nivoe NO u serumu kod ljudi (Radaković-Ćosić i saradnici, 2023). Rezultati pilot studije, kao i naknadno u punom obimu izvedene doktorske disertacije, vezani za trajanje KOS u celokupnoj populaciji ispitanica i u studijskim grupama su u saglasju sa objavljenim literaturnim podacima (Purandare i saradnici, 2017; Martin i saradnici 2006; Dahdouh i saradnici 2014). Rezultati disertacije koji se odnose na primenjene doze gonadotropina su takođe u skladu sa rezultatima drugih studija (Dahdouh i saradnici 2014). Rezultati ove disertacije su između ostalog i u saglasju sa studijom koja ukazuje da koncentracija NO u FT može biti marker u predikciji kvaliteta oocita i implantacionog potencijala embriona (Staicu i saradnici, 2021). Takođe, rezultati disertacije su slični rezultatima drugih studija izvedenih na animalnom modelu, kod miševa (Barroso i saradnici, 1998).

Za razliku od nekih studija izvedenim na humanom modelu (Battaglia i saradnici, 2003), rezultati ove doktorske disertacije nisu pokazali postojanje korelacije nivoa NO sa stopama ostvarenih trudnoća postupkom VTO. Ipak prethodni literaturni podaci vezani za ovu tematiku su kontradiktorni, pa je izostanak korelacije nivoa NO sa stopama ostvarenih trudnoća u ovoj disertaciji u skladu sa rezultatima drugih studija (Lipari i saradnici, 2009).

Prethodna istraživanja o povezanosti koncentracija NO u serumu i FT sa jedne i kvaliteta oocita i embriona sa druge strane su malobrojna, a njihovi rezultati i zaključci su kontradiktorni. Lee i saradnici su ukazali na nedostatak korelacije koncentracija NO u FT sa kvalitetom oocita i kvalitetom embriona i uspehom VTO (Lee i saradnici, 2000), što je u saglasju sa rezultatima ove doktorske disertacije. Međutim, Lee i saradnici su ukazali da viši nivoi nitrita i nitrata u folikulima rezultiraju embrionima lošijeg kvaliteta (Lee i saradnici, 2004), što je u suprotnosti



sa rezultatima ove disertacije. Ovo nesaglasje rezultata može se objasniti činjenicom da su Lee i saradnici istraživanje sprovedli na malom uzorku (36 žena) i da su se inkluzioni kriterijumi studije u mnogome razlikovali u odnosu na uključujuće kriterijume ove disertacije. Studija Lee i saradnika uključivala je samo peritonealne faktore infertiliteta i muški faktor infertiliteta.

Rezultati disertacije su u skladu sa rezultatima koje su objavili Vignini i saradnici, gde je koncentracija NO u FT veća kod pacijenata sa embrionima lošeg kvaliteta u odnosu na one sa visokokvalitetnim embrionima (Vignini i saradnici, 2008). Imajući u vidu mali broj studija koje su se odnosile na ulogu NO u procesu VTO, istraživanja u ovom pravcu su od neophodnog značaja, kako bi se jasno definisala uloga NO u VTO, a rezultati ove doktorske disertacije su u svakom slučaju u ovom smislu dali veliki doprinos.

### **E) Objavljeni radovi koji čine deo doktorske disertacije**

Radakovic-Cosic J, Mikovic Z, Mandic-Rajcevic S, Sudar-Milovanovic E, Stojavljevic A, Nikolic G, Radojicic O, Perovic M. Does controlled ovarian stimulation during in vitro fertilization affect the level of nitric oxide a potential indicator of oocyte quality? Medical Hypotheses. 2023May1;174:111061. M22, IF=4,7.

Radakovic-Cosic J, Mikovic Z, Perovic M. Istorijat primene gonadotropina u kontrolisanoj ovarijalnoj stimulaciji u postupku vantelesne oplodnje. Medicinski podatak. 2024:75.4. DOI 10.5937/mp75-47616.

### **F) Zaključak (obrazloženje naučnog doprinosa)**

Doktorska disertacija „Efekti kontrolisane ovarijalne stimulacije na nivo azot-monoksida u serumu i folikularnoj tečnosti pacijentkinja u procesu vantelesne oplodnje“ dr Jovane Radaković Ćosić, kao prvi ovakav rad u našoj populaciji ali i globalno, predstavlja originalni naučni doprinos u razumevanju uticaja KOS na nivo azot-monoksida u serumu i folikularnoj tečnosti, kao i na uticaj ovih nivoa na ishode KOS (broj dobijenih jajnih ćelija i broj dobijenih kvalitetnih jajnih ćelija) i ishode VTO (broj dobijenih embriona, broj dobijenih kvalitetnih embriona, stope biohemijskih, kliničkih trudnoća i trudnoća nakon 12. nedelje gestacije, kao i stope živorođenosti nakon VTO). Iako su studije koje su ispitivale efekte NO na proces VTO pokazale da NO utiče na fertilizaciju, preciznije definisanje uloga NO u maturaciji jajnih ćelija, fertilizaciji i razvoju embriona zahteva znatno obimnija istraživanja. VTO je metod biomedicinski potpomognutog oplođenja i lečenja neplodnih parova, ali je istovremeno vredan naučno-eksperimentalni metod za evaluaciju uticaja NO na fertilitet žene. VTO u tom smislu

omogućava procenu svake pojedinačne faze reproduktivnog procesa, od folikulogeneze do implantacije embriona. Bez obzira na važnu ulogu NO u fiziološkim i patofiziološkim procesima u humanoј reprodukciji, pretpostavka da KOS utiče na milje NO u serumu i folikularnoj tečnosti do sada nije testirana ni na humanim, ni animanim, tako ni na in vitro eksperimentalnim modelima. Potvrđivanje hipoteze ove doktorske disertacije moglo bi imati više značajnih posledica. Ispitivanje uticaja promene koncentracije NO u serumu i njegove koncentracije u FT na broj i kvalitet jajnih ćelija i embriona moglo bi dovesti do upotrebe NO kao inovativnog biomarkera u predikciji ishoda VTO. Kombinovanje serumskih i folikularnih vrednosti NO sa procenom morfoloških karakteristika jajnih ćelija i embriona može postati pouzdaniji i senzitivniji metod u proceni razvojnog kvaliteta i kapaciteta jajne ćelije i embriona u odnosu na sve dosadašnje aktuelne metode. Rana detekcija neadekvatnih vrednosti serumskih i folikularnih nivoa NO (već na dan aspiracije jajnih ćelija) i predikcija negativnog ishoda VTO pruža vremenski okvir za terapijsko delovanje i sprečavanje negativnog ishoda VTO. Buduća suplementacija medijuma za kulturu embriona materijama koje bi korigovale efekte predhodno neadekvatnih vrednosti NO u sredini u kojoj se razvijala jajna ćelija mogla bi prevenirati neželjene ishode (neuspeh) vantelesne oplodnje, odnosno povećati uspešnost ove procedure.

Ova doktorska disertacija je urađena prema svim principima naučnog istraživanja. Ciljevi su bili precizno definisani, naučni pristup je bio originalan i pažljivo izabran, a metodologija rada je bila savremena jer obrazlaže izbor primenjenih metoda, kriterijume za izbor pacijenata, jasno prikazuje koncept i plan sprovedenog istraživanja, te prikazana metodika rada omogućava čitaocu da se upozna sa načinom izvođenja istraživanja. Predočeni su detalji o korišćenim instrumentima, aparatima, priboru, korišćenim supstancama i postupcima obrade biološkog materijala (serum, folikularna tečnost, sperme i seminalne tečnosti) i merenjima nivoa ispitivanih supstanci (hormoni i azot-monoksid), kao i vid procene kvaliteta jajnih ćelija i embriona, i načini izračunavanja stopi ostvarenih trudnoća i živorođenosti nakon VTO. Zbog svega navedenog, drugi istraživači mogu ponoviti sve opisane postupke. Rezultati su pregledno i sistematično prikazani i diskutovani, a iz njih su izvedeni odgovarajući zaključci.

Na osnovu svega navedenog, i imajući u vidu dosadašnji naučni rad kandidata, komisija predlaže Naučnom veću Medicinskog fakulteta Univerziteta u Beogradu da prihvati doktorsku disertaciju dr Jovane Radaković Ćosić i odobri njenu javnu odbranu radi sticanja akademske titule doktora medicinskih nauka.

U Beogradu, 08.04.2024.

Članovi Komisije:

Prof. dr Svetlana Dragojević Dikić

---

Doc. dr Lidija Tulić

---

Doc. dr Jovana Paunović Pantić

---

Esma Isenović, naučni savetnik

---

Prof. dr Artur Bjelica

---

Mentor 1:

Prof. dr Željko Miković

---

Mentor 2:

Dr sci. med. Milan Perović

---