

РЕЦЕНЗИЈА

НА ДОКТОРСКА ДИСЕРТАЦИЈА СО НАСЛОВ „КОРЕЛАЦИЈА ПОМЕЃУ СЕКРЕТОРЕН ИМУНОГЛОБУЛИН А ОД МАЈЧИНОТО МЛЕКО И ALPHA GLUTATHIONE S TRANSFERASE ВО СЕРУМ КАЈ ДОЕНЧИЊА СО АКУТЕН ГАСТРОЕНТЕРИТ”, ПРИЈАВЕНА НА ФАКУЛТЕТ ЗА МЕДИЦИНСКИ НАУКИ, УНИВЕРЗИТЕТ „ГОЦЕ ДЕЛЧЕВ” - ШТИП

Со Одлука од 20.11.2020 година, донесена на 30. седница на Наставно-научниот совет на докторски студии на Кампус 3 – Факултет за медицински науки, Универзитет „Гоце Делчев” Штип, формирана е Комисија за оценка и одбрана на докторската дисертација со наслов „Корелација помеѓу секреторен имуноглобулин А од мајчиното млеко и alpha glutathione S transferase во серум кај доенчиња со акутен гастроентерит”, пријавена и изработена од кандидатката д-р Марија Димитровска-Иванова, во состав:

- проф. д-р Милка Здравковска – претседател
- проф. д-р Соња Пеова – член, екстерен ментор
- проф. д-р Светлана Јовевска – член
- проф. д-р Катарина Ставриќ – член
- проф. д-р Елизабета Зисовска – член, ментор.

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

ИЗВЕШТАЈ

Анализа на трудот

Докторската дисертација со наслов „Корелација помеѓу секреторен имуноглобулин А од мајчиното млеко и alpha glutathione S transferase во серум кај доенчиња со акутен гастроентерит”, пријавена и изработена од д-р Марија Димитровска-Иванова е напишана на 177 страници во А4 формат, со вкупно 27 табели и 21 графикон.

Дисертацијата ги опфаќа следните поглавја: Апстракт на македонски и на англиски јазик, Вовед, Преглед на литературата, Цели на студијата, Методи на истражувачка работа, Резултати, Дискусија, Заклучоци, Листа на кратенки и Цитирана литература.

Во понатамошниот тек на овој извештај е даден краток осврт за секое поглавје од докторската дисертација.

Во поглавјето **Вовед** кандидатката дава информации за актуелноста на акутниот гастроентерит, неговата застапеност во доенчката и раната детска возраст, ги наведува најчестите предизвикувачи на акутен гастроентерит и патолошките промени кои ги предизвикуваат на интестиналниот епител, дава осврт на тежината на клиничките симптоми и честотата од хоспитализации. Укажано е на значењето на мукозниот имунитет пред сè на значењето на sIgA во одбраната на интестиналниот епител од ентерични патогени, значењето на мајчиното млеко во одбраната од инфекции и намалување на доенчкиот морбидитет и морталитет преку присуството на имунолошките компоненти во истото, пред сè на присуството на sIgA, значењето и улогата на интестиналната мукоза во одбрана од ентерични патогени и улогата на ензимите во интестиналните епителни кетки.

Во поглавјето **Преглед на литература** кандидатката дава опис на најчестите вирусни и бактериски предизвикувачи на акутен гастроентерит во доенчката и раната детска возраст. Детално се опишани сезоната на појава, возраста на која се јавуваат, начинот и патот на пренесување, патохистолошките промени на интестиналниот епител и нивната анатомска локализација и е објаснет механизмот на настанувањето на дијарејата. Објаснета е тежината на клиничката слика на акутен гастроентерит за секој предизвикувач поединечно, објаснета е методата на нивна детекција во столицата и начинот на третман. Во ова поглавје се укажува на основната задача на имуниот систем да го брани и чисти организмот од инфективни и други видови агенси препознавајќи ги сопствените и реагирајќи на туѓите антигени. Имуниот систем на фетусот и новороденото

е компетентен, но неискусен и недоволно ефикасен, со карактеристики на Th₂ насоченост. За негово ефикасно созревање е потребна антигена стимулација. Вродениот имун одговор има две улоги, а тоа се: рана одбрана од напад на патогени и известување до стекнатиот имун одговор дека започнала инвазија од патогени. Вродениот имун систем се активира за неколку минути по инвазијата на микроорганизмите и е одговорен за одбраната на организмот во тек на првите часови и денови од инфекцијата. Вродениот имун одговор се појавува веднаш по антигената стимулација, специфичност и меморија нема, не обезбедува отпорност кон повторно заболување. Компоненти на вродениот имун одговор се: физичка бариера (кожа, слузница и цилии), солубилни фактори (C reactive protein - CRP, лизозим, комплемент, масни киселини), клеточни фактори (фагоцити, ткивни макрофаги, НК клетки) и нормалната флора. Стекнатиот имун одговор има специфичност, обезбедува отпорност кон повторно заболување, има способност за меморија на претходни средби и се пројавува со: производство на антитела и со клеточно условена реакција. На стекнатиот имун одговор му се потребни 4-10 дена за да појави соодветна специфична реакција. Лимфоидните клетки се одговорни за стекнатиот имун одговор и обезбедуваат долготраен, специфичен и ефикасен имунитет.

Понатаму во ова поглавје се укажува дека мајчиното млеко претставува оптимална исхрана за новороденчиња и е клучно за одржување на здравјето и градење на темелите за раст и когнитивен развој. Доенчињата примаат системска заштита трансплацентарно и локална интестинална заштита на ГИТ по орален пат преку колострумот и зрелото млеко. Средината на интестиналниот тракт на доеното доенче продолжува да обезбедува заштита против инфекции преку стимулација на бактериската флора сè додека доенчето не се одвикне од доење. Доенчињата што се на мајчино млеко имаат поретко инфекции на респираторниот тракт, поретко воспаление на средното уво, гастронитестинални заболувања и други болести. Во повеќе научни студии е укажано на влијанието на мајчиното млеко во намалување на доенечкиот морбидитет и морталитет од акутен гастроентерит. Всушност и во третманот на овие доенчиња со акутен гастроентерит се препорачува да се продолжи со доење. Одделни состојки на млекото ги обезбедуваат енергетските и нутритивните потреби на новороденчињата и доенчињата, а други влегуваат во состав на новоизградените ткива како составен дел од структурата на клетките. Одредени состојки од млекото имаат посложени функции, заштитни и имуномодулаторски. Со други зборови мајчиното млеко му обезбедува на детето оптимален раст и развој. Мајчиното млеко содржи голем број имуни компоненти како што е sIgA, леукоцити, олигосахариди, лизозим, лактоферин, IFN- γ , нуклеотиди, цитокини. Дел од овие компоненти обезбедуваат пасивна заштита во гастроеинтестиналниот тракт и во дел од горните дишни патишта, превенирајќи адхеренција на патогени на мукозата и на тој начин заштитувајќи ги доенчињата од инвазивни инфекции. Хуманото млеко претставува спој помеѓу мајчиниот имун систем и доенчето. Иако доенчињата имаат антитела, пренесени трансплацентарно, тие остануваат незаштитени кога ќе дојдат во контакт со нови микроорганизми. Мајчиното млеко може да го намали овој ризик преку антителата, присутни во него и на тој начин да го модифицираат имуниот, метаболичниот и микрофлора системот на доенчето. sIgA е главен имуноглобулин во колострумот и зрелото млеко. Се синтетизира во млечните жлезди од две молекули на серумски IgA, поврзани со дисулфидни врски. sIgA е стабилен на ниска pH и резистентен на протеолитичките ензими. Присутен е во цревата на доенчињата што се на мајчино млеко и обезбедува заштита против бактерии и вируси што ја напаѓаат мукозата. Во повеќе проспективни студии е докажано дека должината на траењето на доењето е инверзно поврзана со честотата на појава и тежината на клиничката слика на инфективен гастроентерит во доенчката возраст.

Во натамошниот дел од Прегледот на литературата кандидатката се осврнува на влијанието на микрофлората во развојот на цревата и имунолошкиот систем. Таа е неопходна во одбраната против патогени микроорганизми преку натпреварување за хранливи материи и местата за адхеренција, некои дури и активно ги елиминираат патогените микроорганизми со излучување на антимицробни пептиди. Во отсуство на микрофлората, имунитетот на цревната мукоза е недоволно развиен со појава на помали

мезентеријални лимфни јазли, пејерови плочи и намален број на имунолошки клетки како што се плазма-клетки што произведуваат IgA, CD4+ T-Ly и интраепителен $\alpha\beta$ T-клеточен рецептор на CD8+T-Ly, што резултира во ослабен капацитет за борба против патогените бактерии. Мајчиното млеко е значаен извор на бактериска микрофлора. Составот на микрофлората го обликува производството на IgA, и обратно, произведениот IgA влијае врз составот на микрофлората (Pabst et al., 2016). Оваа сложена меѓусебна поврзаност се смета дека е критично важна за здрав живот бидејќи дисфункциите во оваа рамнотежа може да доведат до дисбиоза и воспаление во дигестивниот тракт. Овој микрофлора – sIgA комплекс има антиинфламаторен ефект преку регулирање на намалувањето на продукцијата на проинфламаторните цитокини (IL-8).

Во овој дел кандидатката детално се осврнува и на улогата на интестиналната мукоза во дигестија и апсорпција на хранливи материи, во заштитата од инфективни, токсични и карциногени материи, ингестирани во дигестивниот тракт. Наведено е дека за оваа цел е вклучен комплексен одбранбен систем: мукозна бариера, епителни клетки со краток животен век (неколку денови) кои имаат комплексен ензимски систем способен да ги метаболизира овие штетни субстанции овозможувајќи нивна екскреција преку жолчката, фецесот и урината. Една од најзначајните класи на ензими кои ја вршат оваа функција се glutathione S transferase (GST) ензимите. Тие се вклучени во врзување, транспорт и детоксикација на овие штетни субстанции преку нивно врзување за глутатион. Alpha glutathione S transferase (α -GST) е изоформа на GST ензимите и високо активен структурен ензим во интестиналните епителни клетки, иако е присутен и во црниот дроб и бубрежите. α -GST е потенцијален биомаркер за интестинално епително оштетување од различни причини - гастроентерити, исхемија на цревата, хронични инфламаторни цревни болести. Може да се користи како скрининг кај пациентите со ризик за интестинална патологија. Ентероцитите рапидно се разрушуваат во раната фаза на интестинално оштетување и ова лесно може да се открие преку одредување на вредностите на α -GST во плазмата земајќи ја како маркер за рано откривање на интестинално оштетување.

По обемниот литературен преглед следуваат **Цели на истражувањето**, каде што се дефинирани прецизно и практично тезите за испитувањето и изработката на истражувањето. Во одредувањето на тезите на докторскиот труд главните насоки на кандидатот д-р Марија Димитровска-Иванова се добиени од клиничката пракса во дијагноза и третман на доенчињата со акутен гастроентерит со различен начин на исхрана. Притоа од клиничките испитувања произлегоа и следните цели:

1. Да се утврди застапеноста на акутен гастроентерит кај доенчињата хоспитализирани на Детското одделение – Клиничка болница Штип.
2. Да се процени дали sIgA од мајчиното млеко има заштитно влијание врз цревниот епител преку евалуација на тежината и траењето на клиничката слика кај доенчињата со акутен гастроентерит во зависност од видот на исхраната.
3. Да се процени дали α -GST може да биде биомаркер за рано интестинално епително оштетување кај доенчиња со акутен гастроентерит и степенот на корелација на нејзините вредности во серумот со степенот на интестиналното епително оштетување поврзано со видот исхрана на доенчињата.
4. Со оглед на фактот што во Република Северна Македонија досега нема студија од оваа област, а во светски рамки постојат само неколку слични студии, мотивот за спроведување на оваа студија е да се покаже дали мукозниот интегритет мерен преку вредностите на sIgA во столицата е заштитен фактор од епително оштетување, мерено преку вредностите на α -GST во серум кај доенчиња со акутен гастроентерит и нивната поврзаност со начинот на исхрана.

Во поглавјето **Методи на истражувачка работа** кандидатката дава опис на дизајнот на студијата, лабораториските методи и техники кои се користени во анализа на собраниот материјал и начинот на статистичка обработка на добиените резултати.

Студијата е работена како како проспективна кохортна студија, започната е на 15.11.2018 година и траела до 31.12.2019 година. За целите на студијата биле опфатени новороденчиња и доенчиња од раѓање до навршена една година од животот со приемна

дијагноза акутен гастроентерит. Сите доенчиња биле хоспитализирани на Детското одделение во Клиничката болница – Штип. Во тек на истражувањето, почитувани се сите етички принципи на клиничко истражување. Кандидатката ги информирала родителите и барала нивна писмена согласност за земање биолошки материјал (столица и венска крв) од нивните деца за анализи.

Направен е соодветен анкетен прашалник на кој одговарала мајката и кој е во прилог на овој докторат. Во прашалникот кандидатката ги опфатила следните сегменти: возраста на доенчето, начинот на исхрана (доење, адаптирана млечна формула или комерцијално кравјо млеко) и практиката на одвикнување. Вклучени биле и податоци за појавата на симптомите на акутен гастроентерит во последните 24 часа пред прием (број на повраќања, број на столици 24 часа пред прием, степен на дехидратација на прием и покачена температура), како и податоци за исхраната и здравствената состојба на мајката доилка. Одговорите биле со заокружување и писмен одговор. Доенчињата се поделени во 4 групи според возраст во месеци и според млечната исхрана и воведувањето немлечна храна.

Група I – опфаќа новороденчиња и доенчиња од раѓање до полни 6 месеци, кои биле ексклузивно доени.

Група II – опфаќа новороденчиња и доенчиња од раѓање до навршени 6 месеци неексклузивно доени (доенчиња, кои од самото раѓање или од првиот месец, се на адаптирана млечна формула или комбинација на исхрана со мајчино млеко и адаптирана млечна формула, доенчиња што се на доење и кај кои е започната немлечна храна, доенчиња на адаптирана формула и немлечна храна, како и доенчиња што се хранат со кравјо млеко, козјо млеко итн.)

Група III – опфаќа доенчиња од 7 до 12-месечна возраст, кои се хранеле со мајчино млеко и дополнително адаптирана млечна формула и немлечна храна.

Група IV – опфаќа доенчиња од 7 до 12-месечна возраст кај кои исхраната се спроведувала со адаптирана млечна формула или кравјо/козјо млеко и кај кои била воведена немлечна исхрана.

Ексклузивно доени се доенчиња што се хранеле само со мајчино млеко и не добивале дополнително друга храна и течности дури и вода (со исклучок на перорален рехидрациски раствор, витамини, минерали и лекови).

Клиничката слика и степенот на дехидратацијата се одредени со физикален преглед и е направена поделба на степенот на дехидратацијата на лесен, среден и тежок преку употреба на клинички скоринг систем. (World health organization: Integrated management of childhood illness-Module 4, Diarrhoea)

За секое доенче вклучено во истражувањето е пополнуван евидентен лист во кој се следел развојот на клиничката слика и потребата од парентерална рехидрација во тек на болничкиот престој. Во студијата не се опфатени доенчиња кај кои дијарејата била од хируршка или екстраинтестинална причина како и доенчиња што имале примено имunosупресивна терапија.

Од секое доенче, вклучено во студијата биле земани по два примерока столица од пелената со пластична шпатула и 2,5 ml венска крв.

Во едниот примерок столица се докажувало присуство на ротавирус и аденовирус со имунохроматографски тест DUO ROTA-ADENOVIRUS – Check-1, VEDA.LAB (Alencon-France). Од истиот примерок столица се реализирала копрокултура со која се докажувало присуство на ентеропатогени бактерии со засејување на примерокот столица на соодветна подлога: Крвен агар (Columbia agar) во текот на 24 часа на 37°C - за изолација на ентеропатогена, ентеротоксична, ентероинванзивна и ентероадхерентна *E coli* (Biolife Italiana N° - 401136). SS агар збогатен со Selenit F бујон (Biolife Italiana N° - 402025) во тек на 24 часа на 37°C – за изолација на салмонела и шигела (Biolife Italiana N° - 402075). *Campylobacter* агар во тек на 24 часа на 37°C – за изолација на *Campylobacter spp.* (Oxoid CM0739).

Вториот примерок столица кандидатката го собирала во епендорф микропрувети и истиот го замрзнувала на -80°C во лабораторијата на Факултет за медицински науки при

Универзитет „Гоце Делчев“ – Штип (УГД) и во тој примерок е одредувано нивото на sIgA со ELISA метода (Mindray MR-96A) во дијагностичката лабораторијата Фармахем-Скопје. За одредување на нивото на sIgA во столицата е користен тестот IDK sIgA ELISA kit (Catalog N° K8870) од производителот Imundiagnostik Bensheim, Germany.

За одредување на α -GST во серум се земале по 2,5 ml венска крв во епрувети SST (Seum separator tubes) од 5 ml од производителот Grainer Bio-One. Потоа крвта се центрифугирала во центрифуга во лабораторијата на Клиничка болница – Штип на 2.500 вртежи во текот на 15 минути. Во пет епендорф микроепрувети се одделувало по 200 μ l од добиениот серум и примероците биле замрзнати на -80°C во лабораторијата на Факултет за медицински науки УГД – Штип се до моментот на квантитативно одредување на α -GST во серумот со ELISA метода (Mindray MR-96A) во дијагностичката лабораторијата Фармахем-Скопје. За квантитативна детерминација на хумана α -GST во серум е користен ELISA kit на производителот CUSABIO (CSB-E08906h).

Собраните податоци се обработувани со помош на статистичкиот програм SPSS 20 и Statistica for Windows – верзија 10 и следниве статистички методи:

Базите на податоците се формирани со примена на специфични компјутерски програми, наменети за таа цел. Нивната обработка е извршена со помош на стандардни дескриптивни и аналитички биваријантни и мултиваријантни методи. Атрибутивните статистички серии се анализирани со одредување на коефициент на односи, пропорции, стапки и со одредување на статистичката значајност меѓу откриените разлики. Нумеричките серии се анализирани со мерки на централна тенденција и со мерки на дисперзија на податоците. Статистичка сигнификантност на веројатноста меѓу дистрибуциите на фреквенциите на две атрибутивни варијабиле се проценуваше со тестот на разлика (Difference test), а меѓу нумеричките серии со помош на Student t-тест.

Корелативните односи се реализирани со помош на Пирсоновиот (Pearson) коефициент на линеарна корелација. Веројатноста за асоцијацијата меѓу дистрибуциите на фреквенциите на две атрибутивни варијабиле е проценувана со Pearson Chi square тестот и Fisher exact 2 tailed test. Користен е вкрстениот однос Odds ratio-OR да се утврди врската помеѓу зависната критериумска варијабла и независната. Со Shapiro-Wilk's test е тестирана нормалноста на дистрибуцијата на варијаблите. За CI (интервал на доверба – confidence interval 95% CI) е дефинирано статистичко значење на ниво на стандардна грешка помала од 0,05 (p). Резултатите се прикажани во табели и графикони.

Во поглавјето **Резултати** кое се надоврзува се презентирани добиените вредности од реализираните тестови, согласно со целите, материјалите и методологијата во докторскиот труд. Истите се табеларно и графички презентирани, соодветно статистички анализирани и споредени. Од статистичката обработка увидено е дека разликата за просечниот број на повраќања пред прием кај доенчињата од првата и втората група е статистички сигнификантна, но не и помеѓу доенчињата од третата и четвртата група. За просечниот број на течни столици пред прием и покачената температура е утврдена статистички сигнификантна разлика како помеѓу првата и втората група, така и помеѓу третата и четвртата група. Лесен степен на дехидратација е забележан кај сите доенчња од првата група додека во втората група лесен степен е регистриран кај 25,0%, умерен кај 43,75% и тежок степен на дехидратација кај 31,25% од доенчињата. Помеѓу третата и четвртата група постои статистички сигнификантна разлика за лесен и умерен степен на дехидратација. Ротавирусот е позитивен кај 26 примероци на столица со процент на преваленција (застапеност) од 44,8%. Ротавирусот е позитивен кај едно (14,3%) доенче во првата група, кај 11 (68,75%) во втората група, кај 6 (31,6%) во третата група и 8 (50%) доенчиња во четвртата група. Аденовирус тестот е позитивен кај едно доенче во втората и во четвртата група. Копрокултурата е негативна во првата и третата група. Во втората група е регистрирана *Shigella flexneri* кај едно доенче, а во четвртата група кај две доенчиња е регистрирана *Salmonella enteritidis* и кај едно доенче *Proteus mirabilis*. За просечниот број течни столици во тек на лекувањето постои статистички сигнификантна разлика помеѓу првата и втората група, но не и помеѓу третата и четвртата група. Додека пак за просечниот број на повраќања постои статистички сигнификантна разлика помеѓу првата и втората

група и помеѓу третата и четвртата група. За бројот на денови на парентерална рехидрација постои статистички сигнификантна разлика само помеѓу првата и втората група, додека за бројот на денови на хоспитализација е утврдено дека не постои статистички сигнификантна разлика ниту меѓу првата и втората група ниту меѓу третата и четвртата група. Разликата помеѓу просечната вредност на sIgA во столицата е статистички сигнификантна меѓу првата и втората и меѓу третата и четвртата група. Статистички сигнификантна разлика е добиена и за просечната вредност на α -GST во серум помеѓу првата и втората и помеѓу третата и четвртата група. Од вкупно 26 доенчиња позитивни на Ротавирус кај 21 од нив α -GST беше позитивна во серумот. Според вкрстениот однос sIgA позитивитетот ја намалува шансата (дејствува протективно) за регистрација на тешка и умерена дехидратација, ја намалува шансата за повраќање и ја намалува шансата за покачена температура. Докажано е дека α -GST е сигнификантно пониска во случаите што се позитивни за sIgA во столицата во однос на sIgA негативните случаи за $p=0,002$, потврдувајќи дека присуството на sIgA во доенчките црева ги заштитува од епително оштетување. Од резултатите е регистрирана статистички сигнификантна поврзаност помеѓу ексклузивното доење и ротавирусот. Ексклузивното доење е ефективно во превенција на ротавирус инфекција намалувајќи го ризикот од ротавирус инфекција кај децата посебно во првите 6 месеци од животот OR=0,0758, 95 % CI(0,0071-0,8074).

Во поглавјето **Дискусија** кое во докторската дисертација се надоврзува на еден едноставен и континуиран начин кандидатката ги презентира, симплифицирано добиените резултати и своето видување околу нив, паралелно преку сознанијата од литературните истражувања споредувајќи ги. Имено, анализата на резултатите за sIgA во столицата е во тесна корелација со доењето што го потврдуваат и повеќе научни студии. Во студијата е покажано дека присуството на sIgA од мачиното млеко има протективно влијание за појавата на дијареа и ја намалува тежината на дијареата. Најчест изолиран патоген кај доенчињата од ова истражување е ротавирусот. Утврдено е дека доењето му обезбедува заштита на доенчето од појава на ротавирус дијареа затоа што во првата и третата група само кај мал број на доенчиња е изолиран ротавирусот. Овие резултати се во тесна корелација со резултати од слични научни студии. Во оваа студија кандидатката направила компарација на тежината на клиничката слика на акутен гастроентерит помеѓу доенчињата од 0-6-месечна возраст и од 7-12-месечна возраст во зависност од видот на исхрана. Доенчињата во првите 6 месеци кои биле на ексклузивно доење и кај оние од 7-12 месеци кај кои покрај воведувањето на комплементарна храна е продолжено и со мајчино млеко имале повисоки вредности на sIgA во столицата и полесна клиничка слика на акутен гастроентерит (со полесен степен на дехидратација, со поретка фреквенција на повраќање, помал број на течни столици и бројот на доенчиња со покачена температура бил помал), во споредба со доенчињата од 0-6-месечна возраст кои не биле на ексклузивно доење и кај оние кај кои после 6 месец не е продолжено со мајчино млеко. Во понатамошниот дел од Дискусијата кандидатката укажува дека α -GST е потенцијален биомаркер за интестинално епително оштетување од различни причини – гастроентерити, исхемија на цревата, хронични инфламаторни цревни болести и дека може да се користи како скрининг кај пациентите со ризик за интестинална патологија. Во студијата поголемиот дел од доенчињата кај кои бил изолиран ротавирус имале позитивни вредности на α -GST во серумот што укажува дека ротавирусот може да предизвика оштетување на интестиналниот епител. Но, во зависност од начинот на исхрана, доенчињата од првата и третата група кои имале повисоки вредности на sIgA имале пониски вредности на α -GST во серумот во споредба со доенчињата од втората и четвртата група кои имале повисоки вредности на α -GST во серумот.

Во поглавјето **Заклучоци** кандидатката ги изведува следните заклучоци:

1. Во оваа студија е докажано дека sIgA во столицата е позитивен кај сите доенчиња од 0 до 6-месечна возраст, кои се на ексклузивно доење и кај доенчињата од 7 до 12-месечна возраст кај кои и покрај воведувањето на комплементарната храна е продолжено со доењето. Кај доенчињата кај кои доењето било неексклузивно и кај тие на возраст од 7 до 12 месеци sIgA во столицата во поголем процент бил негативен.

2. Показано е дека присуството на sIgA од мајчиното млеко во цревата кај доенчињата влијае врз намалување на тежината на клиничката слика на акутен гастроентерит.
 - 2а. Позитивните вредности на sIgA во столицата ја намалуваат фреквенцијата на повраќање, која имаше поголема статистичка значајност помеѓу ексклузивно доените и неексклузивно доените доенчиња до 6-месечна возраст, за разлика од доенчињата во вторите две групи каде што фреквенцијата на повраќање во текот на болничкиот престој немаше статистичка значајност. Но од вкупниот број доенчиња, кои имаа позитивни вредности на sIgA во столицата имаше статистички сигнификантна разлика помеѓу доенчињата, кои во поголем процент немаа повраќање во текот на приемот во однос на оние што имаа повраќање.
 - 2б. Позитивните вредности на sIgA во столицата ја намалуваат фреквенцијата на течни столици кај доенчињата со акутен гастроентерит но, со поголема статистичка значајност помеѓу ексклузивно доените и неексклузивно доените доенчиња до 6-месечна возраст, за разлика од доенчињата во вторите две групи од 7 до 12-месечна возраст каде што таа статистичка значајност беше помала.
 - 2в. Позитивните вредности на sIgA во столицата ја намалуваат шансата за умерена и тешка дехидратација со статистичка сигнификантност помеѓу ексклузивно доените и неексклузивно доените доенчиња до 6-месечна возраст како и помеѓу вторите две групи од 7 до 12-месечна возраст. Од вкупниот број доенчиња што беа sIgA позитивни во најголем процент беа доенчињата што имаа лесен степен на дехидратација.
 - 2г. Позитивните вредности на sIgA во столицата го намалуваат ризикот од појава на покачена температура со поизразена статистичка сигнификантна разлика помеѓу ексклузивно доените и неексклузивно доените доенчиња до 6-месечна возраст месеци, во однос на доенчињата во вторите две групи од 7 до 12-месечна возраст. Од вкупниот број доенчиња, кои имаа позитивни вредности на sIgA во столица, се регистрираше статистички сигнификантна разлика помеѓу доенчињата од кои во поголем процент беа застапени оние што немаа покачена температура во однос на оние што имаа покачена температура.
 - 2д. Присуството на sIgA во столицата има влијание врз намалување на бројот на денови на парентерална рехидрација кај ексклузивно доените доенчиња во однос на неексклузивно доените доенчиња до 6-месечна возраст. Но помеѓу вторите две групи доенчиња од 7 до 12-месечна возраст нема статистички сигнификантна разлика помеѓу бројот на денови на парентерална рехидрација.
 - 2ф. Присуството на sIgA во столицата нема влијание врз бројот на денови на хоспитализација, поради што не се регистрира статистички сигнификантна разлика за бројот на денови на хоспитализација ниту помеѓу првите две групи ниту помеѓу вторите две групи доенчиња.
3. Најчест предизвикувач на акутен гастроентерит кај доенчињата во оваа студија е *Rotavirus*, а во многу мал број се *Adenovirus*, *Salmonella enteritidis*, *Shigella flexneri* и *Proteus mirabilis*.
4. Доенчињата што беа на ексклузивно доене имаа значително пониски вредности на α -GST во серум споредено со доенчињата од втората група што не беа ексклузивно доени. Само кај едно доенче од првата група α -GST беше позитивна, но во втората група α -GST беше позитивна кај 15 доенчиња.
 - 4а. Доенчињата од третата група кај кои и покрај воведувањето на комплементарната храна беше продолжено со доене имаа значително пониски вредности на α -GST во серум, споредено со доенчињата од четвртата група кај кои во исхраната не беше вклучено мајчиното млеко. Во третата група α -GST беше позитивна кај 6 доенчиња додека во четвртата група α -GST беше позитивна кај 13 доенчиња.
 - 4б. Во истражувањето се покажа дека за првите две групи како и за вторите две групи постои сигнификантна статистичка асоцијација помеѓу припадност во групата и вредностите на α -GST во серумот.
5. α -GST во серумот беше значително повисока кај доенчињата кај кои беше изолиран ротавирус, само во мал број ротавирус позитивни случаи α -GST беше негативна. Се

докажа статистички сигнификантна разлика за вредностите на α -GST во серум помеѓу ротавирус позитивните и ротавирус негативните доенчиња. Со ова потврдиме дека α -GST може да се користи како биомаркер за рано интестинално епително оштетување во доенчињата со ротавирус акутен гастроентерит.

6. Во студијата се покажа дека sIgA во столицата негативно корелира со α -GST во серум за $p=0,002$. Доенчињата што имаа повисоки вредности на sIgA во столица имаа пониски вредности на α -GST во серум, а со тоа и полесна клиничка слика.

Во поглавјето **Листа на кратенки** кандидатката ги наведува сите кратенки кои се коистени во докторскиот труд.

Во поглавјето **Литература** кандидатката наведува околу 241 референца од понов датум кои се конципирани по азбучен ред и се однесуваат на оваа проблематика.

Научен придонес

Од изведените заклучоци согласно со добиените резултати во оваа студија, со релевантни и недвосмислени показатели е покажано дека мајчиното млеко претставува оптимална исхрана за новороденчињата и е клучно за одржување на здравјето и градење на темелите за раст и когнитивен развој на децата. Големiot број протективни фактори во мајчиното млеко може да ја компензира наивноста на стекнатиот имунитет кај новороденчето и незрелоста на другите делови од ГИТ. Многу од компонентите на мајчиното млеко служат за да ја зголемат моќноста на вродениот имун систем. Резултатите од оваа истражување имаат за цел да укажат на улогата која ја има мајчиното млеко во заштита на интестиналниот епител од оштетување предизвикано од патогени микрорганзми и укажуваат на значењето на α -GST во навремената дететкција на доенчињата и децата со интестинално епително оштетување со цел навремено започнување на соодветна терапија кај истите. Добиените резултати од истражувањето за sIgA во столицата можат да најдат примена во националните стратегии за промовирање на доењето во Република Северна Македонија затоа што мајчиното млеко е клучен фактор за одржување на здравјето и градење на темелите за раст и когнитивен развој на децата. Резултатите за α -GST во серум со потекло од интестиналниот епител ќе помогнат навреме да се откријат состојби кај кои постои интестинално епително оштетување како што е кај неонатален некротичен ентероколит со што би се навремено започнало со парентерална исхрана, кај децата со хронична дијареа како последица на целијакија, кронова болест, улцеративен колит како и кај деца со интестинална исхемија.

Докторската дисертација со наслов „Корелација помеѓу секреторен имуноглоблин А од мајчиното млеко и alpha glutathione S transferase во серум кај доенчиња со акутен гастроентерит“ од кандидатката д-р Марија Димитровска-Иванова изработена под менторство на проф. д-р Елизабета Зисовска, редовен професор на Факултет за медицински науки при Универзитет „Гоце Делчев“ во Штип, како интересен ментор, и проф. д-р Соња Пеова, редовен професор во пензија на Медицински факултет при Универзитет „Св. Кирил и Методиј“ во Скопје, како екстерен ментор, е успешно завршена. Трудот е напишан јасно, концизно, на научно и стручно ниво, испитувањата и анализите се добро систематизирани, а добиените резултати се со оригинален карактер, конципирани на ефективен и разбирлив начин и добиени се конкретни заклучоци. Оваа докторска дисертација обработува актуелна тема и содржи податоци од истражувања и литература што се карактеризираат со висок степен на научна и апликативна вредност.

Исполнетост на законските услови за одбрана на докторатот

Кандидатката д-р Марија Димитровска-Иванова пред одбраната на докторската дисертација го ијавила следните рецензирани научни трудови:

1. Dimitrovska-Ivanova, M., & Zisovska, E. (2020). Breast milk effects on clinical signs of

- acute gastroenteritis in infants up to 6 months of age. Research in Physical Education Sport and Health, 9(1), 145-150.
2. Dimitrovska-Ivanova, M., & Zisovska, E. (2020). Evaluation of breast milk sIgA protective role versus alpha glutathione S transferase in infants acute gastroenteritis. Physioacta, 14(1), 77-90.

ЗАКЛУЧОК И ПРЕДЛОГ

Комисијата за оценка и одбрана детално ја разгледа докторската дисертација со наслов „Корелација помеѓу секреторен имуноглоблин А од мајчиното млеко и alpha glutathione S transferase во серум кај доенчиња со акутен гастроентерит“ и донесе заклучок дека истата претставува оригинален, самостоен, прецизно дефиниран, јасно оформен 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 задоволува и исполнува условите потребни за изработка на докторска дисертација.

Врз основа на тоа, Комисијата има чест да му предложи на **Наставно-научниот совет на докторски студии на Кампус 3 да ја прифати позитивната рецензија на Докторската дисертација со наслов „Корелација помеѓу секреторен имуноглоблин А од мајчиното млеко и alpha glutathione S transferase во серум кај доенчиња со акутен гастроентерит“ пријавена и изработена од кандидатката д-р Марија Димитровска-Иванова и да се одобри јавна одбрана на истата.**

РЕЦЕНЗЕНТСКА КОМИСИЈА

Проф. д-р Милка Здравковска, претседател, с.р.

Проф. д-р Соња Пеова, член, екстерен ментор, с.р.

Проф. д-р Светлана Јовевска, член, с.р.

Проф. д-р Катарина Ставриќ, член, с.р.

Проф. д-р Елизабета Зисовска, член, интерен ментор, с.р.