



UNIWERSYTET  
MEDYCZNY  
W ŁODZI

**I Katedra Ginekologii i Położnictwa  
Klinika Patologii Ciąży**

ul. Wileńska 37, 94-029 Łódź, tel. fax. (48) (42) 687-84-97

---

**Ocena rozprawy doktorskiej lekarz Shiar Kassassir- Ćwiklak  
pt.: „Ocena ekspresji naczyniowo- śródbłonkowego czynnika wzrostu (VEGF) w  
polipach endometrialnych i prawidłowym endometrium”.**

Zagadnienia dotyczące nieprawidłowości w obrębie endometrium dotyczą między innymi występowania polipów endometrialnych w jamie macicy. Jest to zjawisko występujące nawet u ponad 1/3 ogółu kobiet, choć często przez swój bezobjawowy przebieg pozostaje nierozpoznane.

Coraz częściej zwraca się uwagę na zróżnicowane tło oraz ryzyko wynikające z obecności polipa endometrialnego.

Naczyniowo- śródbłonkowy czynnik wzrostu- VEGF jest ważnym regulatorem angiogenezy. Uczestniczy również w angiogenezie guzów litych, co umożliwia wzrost przepuszczalności naczyń oraz indukuje fenestrację prowadzącą do wynaczynienia białek osoczowych, przyczyniając się w ten sposób do inwazji komórek zrębu.

VEGF w endometrium jest jednym z głównych mediatorów angiogenezy stymulując proliferację komórek, wzrost przepuszczalności śródbłonka i migrację komórek śródbłonka.

Badania Xuebing i Erinanca przytaczane przez Autorkę sugerowały znacznie wyższą ekspresję VEGF w obrębie polipów endometrialnych w stosunku do prawidłowego endometrium będącego w fazie proliferacyjnej. Ze względu na jak dotąd nieliczne publikacje oceniające ekspresję VEGF w polipach endometrialnych Doktorantka tym właśnie zagadnieniem zajęła się w swojej dysertacji.

Przedstawiona mi od oceny rozprawa doktorska zawiera 95 stron i napisana została w sposób typowy dla tego rodzaju opracowań.

Wstęp poprzedzony został spisem treści oraz wykazem użytych przez Doktorantkę skrótów.

We wstępie Autorka zapoznaje czytelnika z podziałem polipów endometrialnych, epidemiologią tej patologii endometrium, etiopatogenezą, budową histologiczną oraz diagnostyką. Rycina 1 znajdująca się na 11 stronie nie zawiera odnośnika dotyczącego źródła jej pochodzenia, co należałoby uzupełnić.

Omawiając diagnostykę Doktorantka przedstawia metody oceny endometrium – obrazowe jak: badanie ultrasonograficzne, sonohisterografię, histerosalpingografię, łyżeczkowanie jamy macicy oraz badanie histeroskopowe. Badanie histeroskopowe zostało wzbogacone o liczne zdjęcia polipów endometrialnych pochodzących z praktyki klinicznej Autorki.

W dalszej części wstępu omawia ona metody leczenia polipów endometrialnych, zwracając uwagę na ich skuteczność w aspekcie nawrotów oraz możliwości wystąpienia powikłań pozabiegowych. Następnie Autorka omawia charakterystykę i funkcję VEGF w organizmie z uwzględnieniem jego roli w obrębie endometrium.

W części „Założenia i cel pracy” Doktorantka formułuje 4 cele: ocenę związku między ekspresją VEGF a obecnością polipa endometrialnego, ustalenie wartości diagnostycznej wzorca ekspresji VEGF dla polipów endometrialnych, ocenę korelacji między wymiarami polipa, a ekspresją VEGF oraz porównanie ekspresji VEGF w fazach proliferacyjnej i wydzielniczej.

W rozdziale materiał i metody Doktorantka zapoznaje czytelnika z liczebnością grupy badanej wynoszącą 200 kobiet hospitalizowanych w latach 2011-2013 w ICZMP. Grupa licząca 100 pacjentek utworzona została z osób, u których w wyniku histeroskopii uzyskano polipy endometrialne, co potwierdzone zostało badaniem histologicznym stanowiąc grupę badaną. Grupę porównawczą stanowiło również 100 kobiet, u których z różnych przyczyn wykonano łyżeczkowanie jamy macicy i uzyskano prawidłowy wynik badania wyskrobin – endometrium z fazy proliferacyjnej lub sekrecyjnej. Na przeprowadzenie powyższych badań Doktorantka uzyskała zgodę Komisji Etyki Badań Naukowych ICZMP. Badania immunohistochemiczne wykonane były w Instytucie Biologii Medycznej Polskiej Akademii Nauk w Łodzi przez dwie osoby posiadające do tego kwalifikacje, nie wskazano jednak, czy ocenie zostawał poddawany dwukrotnie ten sam preparat, czy każda z osób oceniających oceniała inne preparaty i czy porównano wyniki pochodzące od dwóch osób oceniających.

Przedstawiony sposób przygotowania preparatów jak i użyte do tego celu odczynniki świadczą o profesjonalnym przygotowaniu warsztatu badawczego.

W opisie badania brak jest informacji na temat pozyskiwania materiału badawczego ze zgromadzonych zasobów pochodzących z wcześniej utworzonych bloczków parafinowych,

czego dowodzi czas pozyskania materiału [lata 2011-2013] i uzyskanie zgody Komisji Etyki [2016], co należałoby uzupełnić.

Opis sposobu oceny ekspresji VEGF jest precyzyjny i opiera się na ocenie ekspresji VEGF na 10 losowo wybranych polach mikroskopowania dla każdej ocenianej próbki. Oceniano odsetek komórek wybarwionych pozytywnie oraz intensywność wybarwienia zgodnie z przedstawionym na stronie 37 schematem. Zobrazowano to za pomocą serii kolorowych zdjęć na rycinach 16 i 17, co znacznie ułatwia czytelnikowi zrozumienie zagadnienia.

Użyte metody analizy statystycznej- pakiet Statistica w wersji 12,5: testy Shapiro-Wilka dla oceny normalności rozkładu, Levina do oceny równości wariancji, U Manna – Whitneya, korelacji rang Spearmana analizy wariancji Kruskala- Wallisa oraz wykonanie analizy statystycznej w profesjonalnym ośrodku – Zakładzie Biostatyki i Medycyny Translacyjnej Uniwersytetu Medycznego w Łodzi, zapewnia uzyskanie miarodajnych wyników prowadzonego badania.

W kolejnym rozdziale „Wyniki” Autorka przedstawia dane demograficzne – dotyczącej jedynie wieku kobiet populacji poddanej badaniu, z podziałem na grupę badaną oraz porównawczą. Porównanie to wskazało na istotnie wyższy wiek kobiet z grupy badanej. Następnie analizie poddano odsetek wybarwionych VEGF dodatnio komórek w porównywanych grupach uzyskując istotnie wyższy odsetek w grupie badanej, co przedstawiono w tabeli 6 i na rycinie 20. Autorka poddała następnie ocenie intensywność świecenia- natężenia wybarwienia komórek VEGF pozytywnych i wykazała istotnie wyższą intensywność wybarwienia w grupie badanej.

Kolejnym etapem analizy było porównanie liczebności różnych stopni wybarwienia komórek VEGF pozytywnych w porównywanych grupach oraz stworzenie krzywej AUC dla komórek wybarwionych w przedziale 33-66%. Uzyskano wskaźnik mocy diagnostycznej wynoszący dla tego parametru 0,68.

Następnie Doktorantka określiła wskaźnik mocy diagnostycznej intensywności odczynu barwnego ocenianego na co najmniej 2, uzyskując wartość 0,75.

Na podstawie uzyskanych danych Doktorantka przedstawiła swój wzorzec ekspresji charakterystyczny dla polipa endometrialnego jako intensywność odczynu ocenianą powyżej 2, czyli co najmniej umiarkowane wybarwienie pozytywne oraz odsetek pozytywnie wybarwionych komórek wynoszący co najmniej 4 [ $>33\%$ ].

Analizując uzyskane wyniki Autorka uzyskała silną korelację między odsetkiem komórek wybarwionych pozytywnie oraz intensywnością odczynu osobno dla grupy badanej i porównawczej. Przeanalizowała następnie zależność między wiekiem pacjentek a

intensywnością odczynu w porównywanych grupach nie znajdując korelacji między wiekiem a odsetkiem wybarwionych komórek. Uzyskała istotną zależność między wiekiem a intensywnością wybarwienia komórek dla całej populacji badanych kobiet.

Kolejnym etapem analizy wyników było porównanie odsetka pozytywnych komórek w zależności od fazy cyklu, gdzie uzyskano istotne różnice między grupą polipów, a grupą zdrową zarówno w fazie proliferacyjnej jak i wydzielniczej. Taką samą zależność Autorka stwierdziła analizując intensywność odczynu w grupach w odniesieniu do fazy cyklu.

Doktorantka poddała analizie wiek pacjentek, odsetek komórek wybarwionych i intensywność odczynu w grupie porównawczej w zależności od fazy cyklu nie znajdując istotnych różnic w zakresie wieku. Istotna zależność występowała między odsetkiem wybarwionych komórek a fazą cyklu. Istotnie wyższy odsetek wybarwionych komórek stwierdziła ona u kobiet w II fazie cyklu. Istotnie większe nasilenie odczynu występowało również w II fazie cyklu.

Kolejnym ocenianym parametrem była zależność między średnicą polipa, a ekspresją VEGF. Doktorantka nie stwierdziła różnic w odsetku wybarwionych pozytywnie komórek ani w intensywności odczynu barwnego.

W rozdziale „Dyskusja” Autorka ponownie opisuje etiopatogenezę polipów endometrialnych oraz rolę VEGF jako czynnika angiogenego, co zostało już szeroko opisane we wstępie.

Autorka w prawidłowy sposób porównuje uzyskane przez siebie wyniki z wynikami innych autorów. Wyjaśnia również strategię prowadzonego badania celem uzyskania wzorca odczynu VEGF dla kobiet zdrowych.

Doktorantka analizuje wyniki uzyskane przez innych autorów w czasie tzw. okienka implantacyjnego, tłumaczy również rolę VEGF w zaburzeniach płodności.

Omawia publikacje innych autorów wykazujące pozytywną korelację wielkości średnicy polipa >12mm ze zmianami dysplastycznymi, co jest zgodne z badaniem Autorki.

Rozprawę zamykają cztery wnioski odpowiadające na postawione cele pracy.

Pracę uzupełniają streszczenia polskie i angielskie, spisy tabel i rycin.

Piśmiennictwo przedstawione na końcu opracowania zawiera 210 pozycji literaturowych przedstawionych w kolejności cytowania, zgodnych tematycznie z prowadzonymi badaniami.

Podsumowanie.

Rozprawa doktorska lekarz Shiar Kassasir- Ćwiklak pt.: „Ocena ekspresji naczyniowo-śródbłonkowego czynnika wzrostu (VEGF) w polipach endometrialnych i prawidłowym endometrium” posiada istotną wartość poznawczą, gdyż brak jest opracowań w ten sposób analizujących ekspresję VEGF w polipach endometrialnych.

Badania przeprowadzone zostały z należytą starannością, zarówno pod względem doboru materiału, jak i nowoczesnych metod diagnostycznych i analizy statystycznej.

Układ pracy jest poprawny pozwala na dokonanie analizy opracowania, a opatrzenie szerokim wprowadzeniem ułatwia czytelnikowi zapoznanie się z problematyką badania i materiałem badawczym.

Zastosowane metody oceny statystycznej są odpowiednio dobrane do liczebności badanych grup. Opracowanie wyników badań i zastosowanie uznanych metod badawczych przekonuje o wnikliwości Doktorantki w ich prowadzeniu. Omówienie wyników badań przeprowadzone zostało w sposób obiektywny.

Dyskusja napisana została w sposób prawidłowy odnosząc się do uzyskanych wyników oraz nowych pozycji literaturowych.

Wybór tematu stanowiącego ważny problem kliniczny oceniam wysoko, a uzyskane wyniki mogą w przyszłości znaleźć praktyczne zastosowanie w przewidywaniu patologii endometrium. Niewielkie niedociągnięcia nie obniżają w żaden sposób wartości opracowania i nie mają wpływu na pozytywną ocenę przedstawionej mi do oceny pracy.

Rozprawa prezentuje szeroką wiedzę teoretyczną Doktorantki i jest oryginalnym rozwiązaniem problemu klinicznego potwierdzającym samodzielność Doktorantki w prowadzeniu badań naukowych.

Stwierdzam więc, że rozprawa doktorska spełnia warunki określone w art. 13 ustęp 1 ustawy z dnia 14 marca 2003 o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz.U. Nr 65 poz 595 z późn. zm).

Zwracam się zatem do Rady Naukowej Instytutu „Centrum Zdrowia Matki Polki” o skierowanie rozprawy doktorskiej lekarz Shiar Kassassir-Ćwiklak do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Łódź. 15 listopada 2021.

Prof. dr hab. Agata Karowicz-Bilińska



