



Kliniczny Szpital Wojewódzki Nr 1
im. Fryderyka Chopina
Numer umowy: 090100440320200801
35-055 Rzeszów, ul. Szopena 2



KLINIKA GINEKOLOGII, GINEKOLOGII ONKOLOGICZNEJ I POŁOŻNICTWA

Kierownik Kliniki: dr hab. n. med. Tomasz Kluz, Prof. UR
Sekretariat: (17)8666351, Gabinet lekarski: (17)8666352, Dyżurka położnych: (17)8666353
email: biuro.ginekologia@szpital.rzeszow.pl

Recenzja rozprawy pt., „Ocena ekspresji naczyniowo -śródbłonkowego czynnika wzrostu (VEGF) w polipach endometrialnych i prawidłowym endometrium” przedstawionej przez lek. med. Shiar Agata Kassassir-Ćwiklak na stopień doktora nauk medycznych.

Przedłożona mi do recenzji rozprawa na stopień doktora nauk medycznych lek. med. Shiar Agaty Kassassir – Ćwiklak dotyczy bardzo ważnego problemu w ginekologii onkologicznej jakim są zmiany patologiczne w błonie śluzowej jamy macicy. Nowotwory złośliwy trzonu macicy zajmują trzecie miejsce pod względem występowania nowotworów w populacji polskich kobiet, a zarazem są najczęściej występującym nowotworem złośliwym narządu rodnych kobiet. Zarówno w Polsce jak i na świecie ilość zachorowań jak i zgonów z roku na rok wzrasta. W Polsce największą ilość nowych przypadków nowotworu złośliwego błony śluzowej trzonu macicy odnotowano w grupie kobiet w wieku 65-69 lat (1184) oraz w wieku 60-64 lat (1121). Nowotwór ten wyróżnia się częstszym występowaniem w krajach wysoko i średnio rozwiniętych. Polip endometrialny jest określany jako miejscowy rozrost tkanki endometrialnej zawierający zarówno nabłonek gruczołowy jak i komórki zrębu. Powstaje jako monoklonalny rozrost komórek zrębu endometrium z wtórnym monoklonalnym łagodnym rozrostem gruczołów endometrium. W większości przypadków w polipie nie dochodzi do zmian typowych dla cyklicznego wpływu estrogenów i progesteronu na tkankę endometrialną. Komponenta gruczołowa nie wykazuje aktywności proliferacyjnej ani sekrecyjnej. Patogeneza powstawania polipów endometrialnych nie jest do dnia dzisiejszego jasno wyjaśniona. Ważnym elementem w prawidłowym funkcjonowaniu endometrium jest równowaga pomiędzy aktywnością mitotyczną a apoptozą, w której uczestniczą zarówno komórki układu odpornościowego, hormony, interleukiny, cytokiny oraz białka. Wśród czynników ryzyka pojawienia się polipa endometrialnego podaje się wiek, nadciśnienie tętnicze oraz otyłość jako źródło konwersji obwodowej hormonów płciowych. Analiza badań, które ukazały się w przeciągu ostatnich lat poprowadziła do wysnucia teorii, że być może mamy do czynienia z dwiema głównymi przyczynami powstawania polipów endometrialnych. Pierwszy rodzaj stanowiłyby polipy powstałe wskutek stymulacji hormonalnej, drugi typ obejmowałby te, w których dochodzi do nadmiernej reakcji zapalnej i w efekcie

wyrzutu wielu czynników proangiogennych, cytokin i białek regulatorowych. Ta dwoistość mogłaby tłumaczyć zarówno różny wzrost polipów, zróżnicowanie objawów jak i potencjalną zdolność do współistnienia z innymi patologiami endometrium tj. rozrostem lub rakiem endometrium. Diagnostyka obrazowa opiera się na wizualizacji polipa endometrialnego w badaniu ultrasonograficznym. Może to być zwykła ultrasonografia przezpochwowa (TVUS) lub sonohisterografia. Ultrasonografia przezpochwowa jest podstawowym narzędziem w diagnostyce ginekologicznej. Ostatnim etapem diagnostyki polipa endometrialnego jest histeroskopia diagnostyczna z ewentualną celowaną biopsją. Naczyniowo-śródbłonkowy czynnik wzrostu (VEGF, vascular endothelial growth factor) został scharakteryzowany jako wiążący heparynę naczyniowy czynnik wzrostu ze szczególnym powinowactwem do komórek śródbłonkowych. VEGF jest głównym regulatorem angiogenezy i waskulogenezy. Badania potwierdzają rolę VEGF w angiogenezie guzów. Wytwarzanie czynników angiogennych przez komórki nowotworowe jest niezbędne dla rozwoju guzów zwłaszcza litych. VEGF przyczynia się również do rozwoju nowotworów ze względu na jego zdolność do zwiększania przepuszczalności naczyń krwionośnych oraz indukuje tworzenie się fenestracji w naczyniach krwionośnych i tworzenie organelli pęcherzykowo-wakuolowych, które tworzą kanały przez które może dochodzić do wynaczynienia białek krwiopochodnych. Prowadzi to do wsparcia wzrostu komórek śródbłonka i komórek nowotworowych oraz umożliwia inwazję komórek zrębu. Do głównych mediatorów angiogenezy w endometrium zaliczamy śródbłonkowy czynnik wzrostu nabłonka naczyniowego (VEGF), rozpuszczalny receptor VEGF-1, angiopoetynę (ANGPT), czynnik komórek zrębu 1 (SDF-1/CXCL12) oraz interleukinę 8. Rolą VEGF jest stymulacja proliferacji, zwiększenie przepuszczalności śródbłonka naczyń oraz migracja komórek śródbłonka.

Celem przedstawionej do recenzji pracy była ocena związku pomiędzy ekspresją VEGF a występowaniem polipa endometrialnego oraz identyfikacja typowego dla polipów wzorca ekspresji VEGF. W pracy określono również korelację między wielkością polipa endometrialnego a ekspresją VEGF i przedstawiono dane o ekspresji VEGF w fazie proliferacyjnej i sekrecyjnej cyklu miesięczkowego.

Grupa badana liczyła 200 pacjentek hospitalizowanych w Klinice Ginekologii Operacyjnej i Ginekologii Onkologicznej ICZMP w latach 2011-2013. Podstawą włączenia do badania była analiza wyników badań histopatologicznych wykonanych w Zakładzie Patomorfologii ICZMP. Grupa badawcza liczyła 100 pacjentek, które miały wykonaną w Klinice Ginekologii Operacyjnej i Ginekologii Onkologicznej ICZMP histeroskopię zabiegową wraz z usunięciem polipa endometrialnego, potwierdzonego w badaniu histopatologicznym bez obecności innych patologii. Grupa badana zawierała zarówno pacjentki objawowe, które zgłosiły się do lekarza prowadzącego z powodu np. nieprawidłowych krwawień z dróg rodnych lub niepłodności oraz pacjentki bezobjawowe, które skierowano do szpitala z powodu nieprawidłowego obrazu ultrasonograficznego. Grupa kontrolna liczyła 100 pacjentek. Stanowiły

ją pacjentki w przedziale wiekowym 21-55 lat, które w trakcie hospitalizacji w Klinice Ginekologii Operacyjnej i Ginekologii Onkologicznej ICZMP poddane były zabiegowi wyłyżeczkowania jamy macicy, natomiast badanie histopatologiczne nie wykazało obecności patologii endometrium.

Pacjentki w trakcie hospitalizacji w Klinice Ginekologii Operacyjnej i Ginekologii Onkologicznej ICZMP miały wykonane przezpochwowe badanie ultrasonograficzne oceniające narząd rodny, w szczególności ocenę średnicy polipa endometrialnego. Powtórne badanie histopatologiczne zostało przeprowadzone przez wykwalifikowany personel medyczny zgodnie z procedurą obowiązująca w Instytucie Centrum Zdrowia Matki Polki w Łodzi. Badania immunohistochemiczne przeprowadzono w Instytucie Biologii Medycznej Polskiej Akademii Nauk w Łodzi. Badacze otrzymali zgodę nr 50/2016 Komisji Etyki Badań Naukowych Instytutu Centrum Zdrowia Matki Polki w Łodzi.

Analizę statystyczną obejmującą wszystkie testy oraz wykresy wykonano za pomocą pakietu statystycznego Statistica wersja 12.5 (Statsoft, Dell Software). Analizę przeprowadzono w Zakładzie Biostatystyki i Medycyny Translacyjnej Uniwersytetu Medycznego w Łodzi.

Wyniki uzyskane przez badającą potwierdziły, że pacjentki z rozpoznaniem polipem endometrialnym były znamienne statystycznie starsze (mediana wieku [Me]=58; zakres międzykwartylowy [IQR] 47,5-58) niż pacjentki z prawidłowym endometrium (Me=45; IQR 40-47,5) ($p < 0,0001$). Nie wykazano istotnych statystycznie korelacji pomiędzy wiekiem a procentem pozytywnie wybarwionych w całej grupie badanej, jak i w podgrupach. Znalezione istotną statystycznie, słabą dodatnią korelację pomiędzy wiekiem a intensywnością wybarwiania w całej grupie badanej ($R = 0,21$ $p < 0,0001$). Takiej korelacji nie odnotowano w podgrupach endometrium i polipy. Odsetek VEGF-pozytywnie wybarwionych komórek istotnie różni się pomiędzy grupami i tak w przypadku porównania grup polipy endometrialne vs endometrium I fazy $p < 0,0001$, natomiast w przypadku porównania grup polipy endometrialne vs endometrium II fazy $p = 0,0288$. U pacjentek w grupie endometrium faza II odsetek VEGF- pozytywnie wybarwionych komórek jest znamienne wyższy niż u pacjentek w grupie endometrium faza I (p testu U-Manna-Whitneya = 0,003). U pacjentek z grupy endometrium faza II intensywność świecenia jest znamienne wyższa niż u pacjentek z grupy endometrium faza I (p testu U-Manna-Whitneya = 0,0005). Wykazano bardzo wysoką dodatnią korelację pomiędzy odsetkiem VEGF-pozytywnie wybarwionych komórek a intensywnością świecenia VEGF-pozytywnych komórek ($R = 0,84$ $p < 0,0001$) w grupie endometrium I fazy. Średnica polipa nie koreluje istotnie z odsetkiem VEGF-pozytywnie wybarwionych komórek ($p=0,7227$) ani z intensywnością świecenia komórek VEGF-pozytywnych ($p=0,4462$)

Na podstawie przeprowadzonych badań stwierdzono, że istnieje związek pomiędzy ekspresją naczyniowo-śródbłonkowego czynnika wzrostu, a wystąpieniem polipa endometrialnego, co potwierdza

prawdopodobną rolę tego czynnika angiogennego w patogenezie polipa endometrialnego. W pracy wykazano, że polipy endometrialne charakteryzują się własnym wzorcem ekspresji VEGF, który jednakże ma umiarkowane znaczenie w różnicowaniu z prawidłowym endometrium. Natomiast ekspresja VEGF jest niezależna od wielkości polipa endometrialnego jednakże zależy od faz cyklu menstruacyjnego i jest najwyższa w fazie sekrecyjnej cyklu.

Praca zawiera 95 stron maszynopisu podzielonego na 12 rozdziałów zawierających wykaz skrótów, wstęp, założenia i cel pracy, materiał i metody, wyniki, dyskusję oraz wnioski i streszczenie w języku polskim i angielskim. W pracy ujęto również zgodę komisji bioetycznej, spis tabel, rycin. Całość uzupełnia 210 pozycji bardzo aktualnego piśmiennictwa.

Po zapoznaniu się z całością tekstu i wnikliwej analizie stwierdzam, że:

1. Praca autorstwa lek. Shiar Agata Kassassir – Ćwiklak jest Jej samodzielnym, niezwykle cennym dorobkiem naukowym, mającym duże implikacje w codziennej pracy klinicysty.
2. Badania zostały przeprowadzone poprawnie pod względem merytorycznym, a wnioski wynikające z analiz zostały prawidłowo sformułowane.
3. Praca ma dużą wartość praktyczną, a przedstawiona we wstępie i dyskusji analiza literatury jest cennym kompendium dotychczasowej wiedzy dla lekarzy.

Podsumowując stwierdzam, że rozprawa doktorska lek Shiar Agata Kassassir - Ćwiklak wykonana została z dbałością, obejmuje bardzo ciekawy materiał badawczy, a szczególną uwagę zwraca staranna edycja, poprawna polszczyzna i nienaganna estetyka pracy. W mojej ocenie podjęte przez Doktorantkę wyzwanie wymagało dużej wiedzy, sprawności i doświadczenia.

Rozprawa na stopień naukowy doktora nauk medycznych w zakresie medycyny lek. med. Shiar Agaty Kassassir – Ćwiklak spełnia moim zdaniem warunki określone ustawą o stopniach naukowych i tytule naukowym. W związku z powyższym wnoszę do Rady Naukowej Instytutu „Centrum Zdrowia Matki Polki” w Łodzi o dopuszczenie lekarza Shiar Agata Kassassir – Ćwiklak do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Rzeszów, 02.01.2022.

KIEROWNIK KLINIKI
Ginekologii i Położnictwa
Tomasz Kluz
Dr hab. n. med. Tomasz Kluz, Prof. UR