

DR HAB. N. MED. HUBERT WOLSKI
PROF. PPUZ W NOWYM TARGU
KLINIKA PERINATOLOGII I CHORÓB KOBIECYCH
UM W POZNANIU

ZAKOPANE, 21.01.2022.

Recenzja rozprawy doktorskiej pt.:
Ocena ekspresji naczyniowo-śródbłonkowego czynnika wzrostu (VEGF) w polipach
endometrialnych i prawidłowym endometrium
Lekarz Shiar Agata Kassassir-Ćwiklak

Polip endometrialny stanowi jedną z najczęstszych patologii ginekologicznych. Etiopatogeneza powstawania tej zmiany do dnia dziś stanowi podstawę licznych badań, których celem jest odnalezienie czynnika odpowiedzialnego za ten miejscowy łagodny rozrost tkanki gruczołowej i zrębu endometrium. Ryzyko współistnienia w polipie zmian rozrostowych wynosi 0,2-12,9 %. Spektrum objawów klinicznych jest uzależnione od wieku pacjentki, może być przyczyną zaburzeń płodności, nieprawidłowych krwawień z dróg rodnych szczególnie w okresie przedmenopauzalnym. Stąd w wielu ośrodkach prowadzone są intensywne badania dotyczące biologii tej zmiany. Etiopatogeneza powstania polipów endometrialnych nie została jednoznacznie wyjaśniona. Powszechnie znane są dwie główne

1

Szpital Powiatowy im. dr. Tytusa Chałubińskiego w Zakopanem
ul. Kamieniec 10, 34-500 Zakopane
tel.: (18) 20-15-351; faks: (18) 20-15-351

NIP: 736-14-54-039
e-mail: sekretariat@szpital-zakopane.pl

REGON: 000311510
www.szpital-zakopane.pl



przyczyny powstawania polipów endometrialnych: nieprawidłowej stymulacji hormonalnej oraz nadmiernej reakcji zapalnej. 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. Wiele uwagi poświęca się również na zrozumienie mechanizmów molekularnych biorących udział w etiopatogenezie polipów endometrialnych. Wydaje się, że dopiero ta wiedza pozwoli na lepsze zrozumienie patofizjologii tej zmiany, jak również na zwiększenie poprawy działań profilaktycznych w zakresie stylu życia, odżywiania, a także polepszy diagnostykę onkologiczną w grupie kobiet z tą patologią. W świetle powyższego uważam, że lekarz Shiar Agata Kassassir-Ćwiklak podjęła niesłychanie istotny temat z zakresu angiogenezy i jej znaczenia zarówno w patogenezie, jak i w progresji wielkości polipa endometrialnego.

Zasadniczym celem pracy była ocena związku pomiędzy ekspresją VEGF, a występowaniem polipa endometrialnego. Identyfikacja typowego dla polipów wzorca ekspresji VEGF. Określenie korelacji między wielkością polipa endometrialnego, a ekspresją VEGF, a także uzyskanie informacji o ekspresji VEGF w fazie proliferacyjnej i sekrecyjnej cyklu miesięczkowego.

Przedstawiona mi do oceny dysertacja ma układ typowy dla tego rodzaju opracowań i składa się z następujących rozdziałów: Wykaz Skrótów, Wstęp, Założenia i Cel Pracy, Materiał i Metody, Wyniki, Dyskusja, Wnioski, Streszczenie w języku polskim i angielskim, Spis Tabel, Spis Rycin, Piśmiennictwo. W całości rozprawa zawarta jest na 95 stronach.

We Wstępie Doktorantka skupia się na omówieniu epidemiologii, etiopatogenezy, klasyfikacji, diagnostyki z uwzględnieniem objawów klinicznych jak i roli badań obrazowych, a także szeroko omawia współczesne metody leczenia i standardy ich zastosowania. W dalszej części przedstawia zagadnienia procesu angiogenezy ze szczególnym podkreśleniem roli VEGF i jego receptorów na komórkach polipów endometrialnych oraz rozwoju naczyń krwionośnych. Dużo uwagi poświęciła również na omówienie funkcji zależnych od VEGF w endometrium. Autorka przedstawia główne mediatory angiogenezy w endometrium śródbłonkowy czynnik wzrostu nabłonka naczyniowego (VEGF), rozpuszczalny receptor VEGF-1, angiopoetynę (ANGPT), czynnik

komórek zrębu 1 (SDF-1/CXCL12) oraz interleukinę 8. Angiogeneza jest kluczowym procesem we wzroście i rozprzestrzenianiu się nowotworów. Czynniki wzrostu, w tym VEGF pełnią główną rolę w tym procesie. Wstęp bardzo dobitnie świadczy o przygotowaniu merytorycznym lekarz Shiar Agata Kassassir-Ćwiklak do prowadzenia zaplanowanych badań.

Eksperymenty przeprowadzone z użyciem materiału biologicznego pochodzącego od pacjentek zakwalifikowanych do badania otrzymały zgodę nr 50/2016 Komisji Etyki Badań Naukowych Instytutu Centrum Zdrowia Matki Polki w Łodzi. Badanie zrealizowano w ramach grantu Młody Naukowiec ICZMP finansowanego z dotacji Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego.

Każda z pacjentek biorących udział w badaniu wyraziła na piśmie świadomą i dobrowolną zgodę na poddanie się zabiegowi histeroskopii zabiegowej i/lub zabiegowi wyłyżeczkowania kanału i jamy macicy. Grupa badana liczyła 200 pacjentek hospitalizowanych w Klinice Ginekologii Operacyjnej i Ginekologii Onkologicznej ICZMP w latach 2011-2013. Podstawą do włączenia do badania była analiza wyników badań histopatologicznych wykonanych w Zakładzie Patomorfologii ICZMP. Grupa badawcza (nazwana „Polipy”) 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. Wykluczone były pacjentki, u których w preparacie histopatologicznym oprócz polipa endometrialnego rozpoznano inną patologię endometrium, pacjentki u których w samym polipie endometrialnym rozpoznano współtowarzyszącą inną patologię oraz pacjentki u których w preparacie histopatologicznym stwierdzono materiał niediagnostyczny lub brak materiału do przeprowadzenia badania. Wykluczono pacjentki z innymi patologiami narządu rodno jak np. mięśniaki macicy, torbiele jajników etc. Pacjentki nie przyjmowały leków hormonalnych minimum 3 miesiące przed zabiegiem.

Grupa kontrolna (nazwana „Endometrium”) 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

wytyżeczkowania jamy macicy, natomiast badanie histopatologiczne nie wykazało obecności patologii endometrium- stwierdzono obecność prawidłowego endometrium fazy folikularnej (49 pacjentek) lub lutealnej (51 pacjentek). Grupę kontrolną stanowiły pacjentki skierowane do szpitala z powodu zaburzeń statyki narządu rodowego, pacjentki z nietrzymaniem moczu, pacjentki z nieprawidłowym wynikiem badania cytologicznego oraz bezobjawowe pacjentki z podejrzeniem polipa endometrialnego w badaniu ultrasonograficznym, które to podejrzenie nie potwierdziło się w trakcie histeroskopii. Wykluczono z grupy kontrolnej pacjentki z innymi patologiami ginekologicznymi (min. mięśniaki macicy, guzy przydatków), pacjentki u których w preparacie histopatologicznym rozpoznano inne patologie endometrium lub stwierdzono materiał niediagnostyczny lub brak materiału do przeprowadzenia badania. Pacjentki w trakcie hospitalizacji w Klinice Ginekologii Operacyjnej i Ginekologii Onkologicznej ICZMP miały wykonane przezpochwowe badanie ultrasonograficzne oceniające narząd rodny przy pomocy aparatu Accuvix V10, w szczególności ocenę średnicy polipa endometrialnego. Badanie histopatologiczne zostało przeprowadzone przez wykwalifikowany personel medyczny zgodnie z procedurą obowiązująca w Instytucie Centrum Zdrowia Matki Polki w Łodzi. Materiałem do badań były preparaty tkankowe wykonane z bloczków parafinowych zdeponowanych w Zakładzie Patomorfologii w Instytucie Centrum Zdrowia Matki Polki w Łodzi. Badania immunohistochemiczne przeprowadzono w Instytucie Biologii Medycznej Polskiej Akademii Nauk w Łodzi.

Przeprowadzone badania immunohistochemiczne, kwantyfikacja oraz archiwizacja danych eksperymentalnych oraz ocena reakcji immunohistochemicznej opisane zostały bardzo starannie. Zastosowano również prawidłowe metody analizy statystycznej.

W badaniu wzorzec ekspresji VEGF w polipach endometrialnych ustalono w oparciu o dwa parametry oceniające ekspresję VEGF w polipach endometrialnych tj. odsetek pozytywnie wybarwionych komórek oraz intensywność świecenia komórek. W toku badań Doktorantka uzyskała interesujące wyniki. Analiza wyników dotyczących ekspresji VEGF w tkankach polipa endometrialnego w porównaniu z prawidłowym endometrium stwierdzono istotną statystycznie różnicę. Wnioski zarówno z przeprowadzonego badania jak i analizy danych literaturowych świadczą o ważnej roli w powstawaniu tej zmiany czynników wzrostu

w szczególności naczyniowo-śródbłonkowego czynnika wzrostu. Autorka dostrzega nowe pola w poznaniu patogenezы polipa endometrialnego jak również innych patologii endometrium. Jest to analiza korelacji pomiędzy wystąpieniem patologii - ekspresją receptorów dla hormonów płciowych, a ekspresją naczyniowo-śródbłonkowego czynnika wzrostu.

Badania zostało bardzo poprawnie zaprojektowane, materiał histopatologiczny w grupie kontrolnej pochodził od pacjentek u których nie stwierdzono żadnej patologii endometrium. Nie można było wykluczyć, że u takich pacjentek dochodzić może do zaburzeń w budowie, składzie komórkowym i ekspresji cytokin prozapalnych, interleukin i czynników wzrostu w całym endometrium. Aby uniknąć potencjalnego zafałszowania wyników autorka podjęła decyzję o włączeniu do grupy kontrolnej pacjentek u których teoretycznie nie występują patologie bezpośrednio wpływające na endometrium.

W przedstawionej rozprawie doktorskiej udowodniono, że ekspresja VEGF jest znacząco wyższa w tkankach polipa endometrialnego w porównaniu do prawidłowego endometrium. Podjęto również próbę określenia typowego wzorca ekspresji VEGF w polipie endometrialnym. Potwierdzono wcześniejsze doniesienia o wyższej ekspresji VEGF w fazie wydzielniczej w porównaniu do fazy proliferacyjnej. Do zalet badania zaliczyć należy włączenie dużej populacji wyselekcjonowanych pacjentek oraz próba odpowiedzi na pytanie czy istnieje korelacja pomiędzy wielkością polipa endometrialnego a ekspresją VEGF, problem ten nie był do tej pory podejmowany w opracowaniach naukowych.

Jednym z najistotniejszych fragmentów omawianej rozprawy jest Dyskusja, w której rzetelnie porównano rezultaty zawarte w omawianej rozprawie z obserwacjami i wnioskami uzyskanymi przez innych autorów. W Dyskusji dużo miejsca Doktorantka poświęca wskazaniu potrzeby identyfikacji nowych markerów, które mogą być wykorzystywane w medycynie rozrodu. Wskazuje również, że przeprowadzone badania mogą mieć znaczenie w nowych schematach terapeutycznych leczenia preparatami estrogenowymi, które podnoszą współczynnik VEGF/sVEGFR-1 co przekłada się na wzrost i różnicowanie endometrium w przebiegu cyklu miesięczkowego, a także z nowymi możliwościami zastosowanie

antagonistów receptora progesteronowego. Potwierdza to teorię, że VEGF jest czynnikiem mediacyjnym działania hormonów płciowych na endometrium.

Wnioski, w liczbie 4, są logicznym podsumowaniem przeprowadzonych badań. Najważniejsze z nich wskazują na istnienie związku pomiędzy ekspresją naczyniowo-śródbłonkowego czynnika wzrostu, a występowaniem polipa endometrialnego, co potwierdza prawdopodobną rolę tego czynnika angiogennego w patogenezie polipa endometrialnego. Ponadto wskazano, że ekspresja naczyniowo-śródbłonkowego czynnika wzrostu zależy od faz cyklu menstruacyjnego i jest najwyższa w fazie sekrecyjnej cyklu, jak również, ekspresji VEGF jest niezależna od wielkości polipa endometrialnego.

W przeglądzie piśmiennictwa Doktorantka zgromadziła aż 210 pozycji, w większości są to publikacje danych z ostatnich kilkunastu lat. Dodatkowo rozprawę zaopatrzone w streszczenie w języku polskim oraz angielskim.

Podsumowując podkreślić należy, że w rozprawie Doktorantka przedstawiła spójnie zaplanowane badania dotyczące istotnego problemu klinicznego. Dysertacja prezentuje wysoki poziom merytoryczny i bez wątpienia stanowi cenny wkład w poznanie patofizjologii rozwoju polipa endometrialnego. Wartością przedstawionej rozprawy jest wskazanie przez Doktorantkę klinicznego zastosowania przeprowadzonych badań, jak identyfikacja markerów, mogących mieć zastosowanie w lepszym zrozumieniu mechanizmów fizjologicznych zachodzących w endometrium jak i w prewencji, w diagnostyce i terapii w klinice ginekologii, ginekologii onkologicznej oraz w zakresie medycyny rozrodu. Wszystko to wpływa na całościowy dobry odbiór omawianej dysertacji.

Podjęcie stale aktualnego tematu z zakresu angiogenezy, zastosowanie poprawnych metod badawczych, właściwa umiejętność dyskusji tematu i prawidłowość wnioskowania składa się na rzetelne opracowanie uzyskanych wyników i przedstawienie interesujących wniosków. W związku z powyższym mam zaszczyt złożyć wniosek do Wysokiej Rady Naukowej ICZMP o dopuszczenie lek. Shiar Agata Kassassir-Ćwiklak do dalszych etapów przewodu doktorskiego i wyróżnienie powyższej rozprawy doktorskiej.

dr hab. n. med. Agata Kassassir-Ćwiklak
specjalista ginekologii
tel. 602 48 11 11
604681