

Warszawa, 16.08.2023

Prof. dr hab. med. Włodzimierz Baranowski
Klinika Ginekologii i Ginekologii Onkologicznej
Wojskowy Instytut Medyczny PIB
Warszawa



Ocena rozprawy

na stopień doktora nauk medycznych lek. Gabrieli Milewskiej „**Molekularne mechanizmy działania progesteronu i selektywnego modulatora receptora progesteronowego w mięśniakch macicy**”

Mimo postępów w zakresie nieoperacyjnego leczenia objawowych mięśniaków macicy u kobiet, stanowiących alternatywę do leczenia chirurgicznego (wyłuszczenie mięśniaków, różne typy histerektomii), liczba pacjentek poddanych leczeniu operacyjnemu stale rośnie. Obserwuje się ponadto wyraźny trend w kierunku wykonywania operacji oszczędzających - wyłuszczenia mięśniaków, mimo istotnie większej trudności technicznej tych zabiegów, większego ryzyka powikłań pooperacyjnych (krwawienia śród- i pooperacyjne, zrosty) i ryzyka nawrotu mięśniaków. Przedoperacyjne leczenie farmakologiczne ma na celu zmniejszenie rozmiarów guza i dosyć często profilaktykę czy leczenie niedokrwistości. Mimo szerokiej dostępności zarówno danych klinicznych jak i tkankowego materiału pooperacyjnego z mięśniaków, etiopatogeneza tych guzów pozostaje niejasna. Z danych molekularnych wynika, że estrogeny i progesteron są istotnym, chociaż nie jedynym czynnikiem promującym powstanie i wzrost mięśniaków. Dobrze

udokumentowanym dowodem na tę zależność jest istotnie wyższa gęstość receptorów ER i PR w komórkach mięśniaków macicy w relacji do sąsiadującego prawidłowego histologicznie miometrium. Wyniki innych badań molekularnych już nie są tak jednoznaczne ale wskazują ponadto na ważną rolę działających miejscowo czynników wzrostu (związanych głównie z angiogenezą i włóknieniem) oraz istotne zaburzenia apoptozy. Wszystkie te zjawiska w dużej części są związane lub nakładają się na zaburzenia genetyczne.

Intensywne badania ostatnich dekad w zakresie innych czynników ryzyka (czynniki demograficzne, etniczne i behawioralne) jedynie w przybliżeniu pozwoliły na zdefiniowanie ich wpływu na ryzyko pojawienia się mięśniaków macicy w różnych populacjach kobiet. Tym samym nadal pozostaje niewyjaśniona zależność pomiędzy mechanizmami patogenetycznymi a zjawiskami kliniczno-epidemiologicznymi.

W ostatnich dekadach nadzieję na skuteczne leczenie farmakologiczne mięśniaków macicy u kobiet budzi grupa substancji zdefiniowanych jako selektywne modulatory receptora progesteronowego (ang. SPRM). Szczególną nadzieję wzbudził octan ulipristalu wprowadzony na rynek ponad 10 lat temu jako środek redukujący liczbę operacji, a także jako lek umożliwiający zastosowanie technik minimalnie inwazyjnych poprzez istotną redukcję objętości guza. Mechanizmy działania tej substancji na poziomie molekularnym, mimo intensywnych badań, nie są jednoznacznie znane, w związku z powyższym wybrany przez lek. Gabrielę Milewską temat rozprawy doktorskiej doskonale wpisuje się w ten nurt badawczy.

Przedstawiona do oceny praca składa się z 6 zasadniczych rozdziałów oraz 5 zawierających aneksy i wykazy, a spisana została na 101 stronach. Układ pracy jest typowy dla tego typu opracowań, za wyjątkiem jednostronicowego

tekstu opisanego jako „abstrakt”, chociaż w pracy znajduje się obszerne streszczenie w języku polskim i angielskim.

Rozdział pierwszy rozprawy to obszerny 20 stronicowy wstęp zawierający istotne i wyselekcjonowane dane z zakresu epidemiologii i kliniki mięśniaków oraz, zgodnie z tematyką pracy, dane na temat ultrastruktury tych guzów, roli macierzy zewnątrzkomórkowej oraz czynników wzrostu zaangażowanych w proces powstawania i wzrostu mięśniaków. W tym rozdziale zostały również klarownie opisane mechanizmy molekularne działania progesteronu i jego receptorów, a także podstawowe dane dotyczące działania i efektów klinicznych leczenia octanem uliprystalu. Z punktu widzenia recenzenta uważam, że ta część rozprawy ma bardzo duże walory dydaktyczne, cechuje się klarownością, a uzupełniona dobrej jakości rycinami stanowi bardzo dobre kompendium pogłębionej wiedzy na temat etiopatogenezy mięśniaków. Jedyna uwaga krytyczna dotycząca tego rozdziału dotyczy klasyfikacji mięśniaków – współcześnie posługujemy się w klinice podziałem FIGO (Munro MG et al. 2011).

Lakoniczny rozdział drugi dysertacji to określenie założeń i celów pracy. Zasadniczy cel badawczy ustalono jako próbę zdefiniowania poszczególnych etapów kaskady zdarzeń molekularnych po zadziałaniu progesteronu w relacji do działania octanu uliprystalu. Finalnie wyniki tych badań miałyby wyjaśniać mechanizmy terapeutycznego działania octanu uliprystalu jako blokera wzrostu mięśniaków macicy u kobiet. Zadanie było bardzo ambitne aczkolwiek oparte na racjonalnych przesłankach wynikających z rezultatów dotychczas opublikowanych danych.

Rozdział trzeci dysertacji to opis materiału badawczego oraz zastosowanych metod badawczych. Z punktu widzenia recenzenta doceniam liczbę badanych kobiet zarówno w grupie badanej – leczone octanem

uliprystalu (n=100) jak i dwóch grup kontrolnych (mięśniaki macicy nieleczone octanem uliprystalu n=150, kontrolne prawidłowe miometrium n=100). Wydawałoby się jednak sensowne w badaniach uwzględnić próbki miometrium uzyskane od tej samej pacjentki w trakcie operacji wyłuszczenia mięśniaków (tak zwana kontrola wewnętrzna). Technicznie jest przecież możliwe uzyskanie miometrium w trakcie operacji, niezależnie od sposobu operacyjnego wyłuszczenia mięśniaków (sposób Bonney'a czy sposób Martina) i zgodny z zasadami etycznymi. W podrozdziale 3.2 zatytułowanym „Leczenie” zawarta jest jedynie informacja o stosowanych w badaniu substancjach oraz źródłach ich zakupu. Pozostała część tego rozdziału szczegółowo opisuje metody hodowli i stymulacji eksplantów tkankowych oraz hodowli i stymulacji pierwotnych hodowli komórkowych mięśniaków i prawidłowego miometrium. W następnym etapie badano poziomy ekspresji wybranych genów z zastosowaniem ilościowej PCR z użyciem specyficznych primerów oraz zastosowano techniki immunohistochemiczne i immunocytochemiczne a także oceniano stężenie badanych czynników wzrostu i cytokin w supernatantach hodowli komórkowych.

Rozdział czwarty, opisujący wyniki przeprowadzonych badań, stanowi najbardziej obszerną, bo obejmującą ponad 30 stron, część opracowania. Ta część również jest bardzo logicznie i jasno przedstawiona – konkluzje oparte o analizę wyników są jednoznaczne i dobrze udokumentowane, w tym w oparciu o analizę statystyczną. Ryciny są bardzo czytelne i nie przeładowane informacyjnie. Ostatni podrozdział tej części rozprawy (4.8) opisujący dwa różne mechanizmy działania w mięśniakach macicy progesteronu i octanu uliprystalu oraz bardzo klarowną rycinę (ryc. 28) proponowałbym przenieść do następnego rozdziału dysertacji jako doskonałe wprowadzenie do dyskusji. Rozdział piąty, obejmujący niespełna 6 stron stanowi rzeczywista dyskusja

porównująca i interpretująca uzyskane wyniki na tle dotychczasowych danych i koncepcji opisanych w piśmiennictwie światowym. W opinii recenzenta, obok przeglądu piśmiennictwa, jest to najlepsza część pracy.

Zasadniczą tezę wynikającą z analizy wyników badań doktorantki jest stwierdzenie, że octan uliprystalu moduluje działanie obu rodzajów receptora progesteronowego (na PGRB działa antagonistycznie, na PRA działa agonistycznie) powodując w ostatecznym efekcie brak aktywności progesteronowej w mięśniakach macicy. Dalsze etapy kaskady wydarzeń molekularnych związanych z aktywnością progesteronu również są modulowane (działanie profibrotyczne, angiogeneza, natężenie apoptozy). Rozdział szósty rozprawy stanowią wnioski – jest ich aż 9, ale każdy z nich znajduje uzasadnienie w wynikach przeprowadzonych przez doktorantkę badań. Zawarte w dysertacji streszczenia w języku polskim i angielskim, formalnie i merytorycznie stanowią dobre uzupełnienie pracy, ze względu na możliwość szybkiego dostępu i zapoznania się z wynikami dla szerokiej rzeszy badaczy.

Rozdział dziewiąty rozprawy stanowi lista publikacji spisana w kolejności cytowania. Zdaniem recenzenta jest ona zbyt długa, wymaga staranniejszej selekcji i jest niekiedy nieprecyzyjna (na przykład cytacja nr 33 (Downes e et al. Eur. J. Obstet. Gyn. Reprod. Biol, 2010) mówi o epidemiologii mięśniaków w Europie (5 krajów), a cytacja ma się odwoływać do USA).

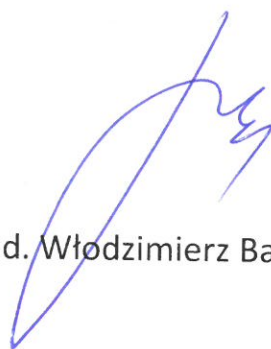
Wnioski końcowe

Przedłożona do oceny rozprawa doktorska zawiera bardzo wartościowy materiał badawczy, opracowany nowoczesnymi metodami biologii molekularnej i statystyki, i mimo niewielkich zastrzeżeń przedstawionych

powyżej, klarownie, spójnie i wyczerpująco opisany. Wyniki przeprowadzonych badań zostały twórczo przedyskutowane na tle aktualnej literatury światowej.

Nieliczne, w relacji do całości rozprawy, uwagi krytyczne, konieczne do wyeliminowania w końcowej wersji opracowania, praktycznie nie wpływają na rzeczywistą wysoką wartość rozprawy.

W związku z powyższym stwierdzam, że rozprawa „**Molekularne mechanizmy działania progesteronu i selektywnego modulatora receptora progesteronowego w mięśniakch macicy**” spełnia ustawowe wymogi stawiane rozprawom doktorskim. Tym samym jest podstawą do ubiegania się o stopień naukowy doktora nauk medycznych i nauk o zdrowiu (art. 187 ustawy z dnia 18 lipca 2018 roku, prawo o szkolnictwie wyższym i nauce - Dz.U. z 2022 r. poz. 574). . Przedkładam zatem Senatowi Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku wniosek o dopuszczenie lek. Gabrieli Milewskiej do dalszych części przewodu doktorskiego i jednocześnie wnioskuję o wyróżnienie tej pracy ze względu na jej wybitne walory naukowe i dydaktyczne.



Prof. dr hab. med. Włodzimierz Baranowski