



wpł 08.09.2017
Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu
WYDZIAŁ LEKARSKI
Prodziekan ds. Nauki
Prof. dr hab. Marzena Fedorowska-Okroj

**II DEPARTMENT OF GYNECOLOGY
MEDICAL UNIVERSITY IN LUBLIN**

Chairman of Department: Professor Tomasz Rechberger, M.D, Ph.D.

20-954 Lublin, 8 Jaczewski St., POLAND, tel. +48/81 72 44 268,
72 44 688, 72 44 686; fax + 48/81 72 44 849

Lublin, dnia 31.08.2017 r.

Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu DZIEKANAT WYDZIAŁU LEKARSKIEGO	
wpl. dnia	07-09-2017
L. dz. DL/ Znak sprawy DL	3317/17

Sz. Pani

Prof. dr hab. n med. Małgorzata Sobieszcańska

Dziekan Wydziału Lekarskiego

Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu

Recenzja

rozprawy doktorskiej lek. med. Piotra Rubisza zatytułowanej „Ekspresja białek proliferacyjnych MCM oraz antygenu KI-67 w mięśniakach macicy”

Mięśniaki macicy są najpowszechniej występującymi łagodnymi guzami u kobiet. Szacowane ryzyko życiowe (*life time risk*) ich wystąpienia ocenia się na około 30%. Są to guzy hormonalnie zależne. Każdy mięśniak powstaje z pojedynczej komórki ale ich potencjał wzrostowy jest różny, podobnie jak różne są objawy kliniczne towarzyszące ich występowaniu. Istnieją także uwarunkowania genetyczne dotyczące występowania tych guzów. Występują one znacznie częściej u przedstawicielek rasy czarnej w porównaniu do kobiet rasy kaukaskiej. Należy tutaj pamiętać, że termin rasa wzbudza kontrowersje związane z brakiem porozumienia, czy dotyczy on stosowanej w klasyfikacji biologicznej naturalnej jednostki, czy też jest konstruktem społecznym, jakkolwiek stosowanie tego terminu w jego prawidłowym *stricte* znaczeniu jest wciąż aktualne. Szacowana różnica w częstości występowania mięśniaków wynosi, w zależności od analizowanych populacji

do 3:1 do 9:1. Inne znane czynniki ryzyka występowania mięśniaków to otyłość i nierództwo. Na szczęście większość mięśniaków nie daje istotnych objawów klinicznych, ale ocenia się, że 25% wszystkich takich zmian daje uciążliwe objawy kliniczne wymagające różnych interwencji medycznych. Objawy uzależnione są głównie od lokalizacji i wielkości mięśniaka i obejmują obfite krwawienia, ból, uczucie pełności w miednicy małej oraz objawy ze strony pęcherza moczowego i odbytnicy związane głównie z uciskiem na te narządy. Ponieważ są to guzy hormonalnie zależne dlatego praktycznie nie występują przed menarche i z reguły ulegają regresji po menopauzie. Opcje terapeutyczne obejmują leczenie farmakologiczne (gestageny, analogi GnRh, selektywne modulatory receptora progesteronowego czy też inhibitory aromatazy), embolizacje naczyń macicznych [UAE], leczenie wiązką ultrasonograficzną sterowaną MRI (magnetic resonance imaging [MRI]-guided focused ultrasound [MRgFUS]), chirurgię mało inwazyjną (histeroskopowe i laparoskopowe miomektomie) i klasyczną chirurgię otwartą (myomektomię i histerektomię).

Wybór metody leczenia zależy od specyficznej charakterystyki i oczekiwań danej pacjentki, ale również od lokalizacji, wielkości i liczby mięśniaków oraz powodowanych dolegliwości, jak też oczywiście od możliwości wykonania danej procedury terapeutycznej ze względu na dostępność aparatury medycznej. Duże oczekiwania związane są z terapią doustną, ale w tym wypadku często nie jesteśmy w stanie przewidzieć stopnia odpowiedzi klinicznej w każdym konkretnym przypadku. Dlatego też wydaje mi się, że wzbogacenie naszej wiedzy o pośrednią ocenę zdolności proliferacyjnych komórek mięśniaka w skojarzeniu z ekspresją receptorów progesteronowych mogłoby pozwolić na lepszą kwalifikację pacjentek do terapii doustnej selektywnymi modulatorami receptora progesteronowego.

Przedstawiona mi do oceny dysertacja doktorska **lek. med. Piotra Rubisza** zatytułowana „**Ekspresja białek proliferacyjnych MCM oraz antygeny KI-67 w mięśniakach macicy**” ma układ typowy i zawarta jest na 94 stronach starannie przygotowanego maszynopisu. Całość poprzedza przydatny do prawidłowego zrozumienia rozprawy wykaz zastosowanych skrótów. W bardzo dobrze napisanym wstępie Autor przedstawia aktualny stan wiedzy dotyczący mięśniaków macicy z uwzględnieniem

istotnych faktów dotyczących ich epidemiologii oraz najnowszych danych dotyczących etiopatogenezy tych powszechnie występujących guzów. Następnie Doktorant w sposób zwięzły ale świadczący o doskonałym zrozumieniu istoty sprawy omawia dostępne dane dotyczące możliwości oceny zdolności proliferacyjnych komórek mięśniaka macicy w oparciu o ocenę histopatologiczną (indeks mitotyczny, atypia komórkowa, ogniska martwicy, wygląd komórek) oraz ocenę ekspresji antygenu Ki-67 przy pomocy przeciwciała MIB-1. Dalej Doktorant omawia występowanie receptorów steroidowych w komórkach mięśniaka i ich potencjalne znaczenie zarówno w aspekcie etiopatogenetycznym jak też terapeutycznym. Kolejną część wstępu to opis rodziny białek MCM kontrolujących podziały komórkowe poprzez licencjonowanie replikacji. Jest to rzeczywiście *terra incognita* jeżeli chodzi o nasze informacje dotyczące ekspresji tych istotnych regulatorów prawidłowych podziałów komórkowych w tkankach mięśniaków macicy. Autor szczegółowo omawia bardzo interesujące badania dotyczące ekspresji tej rodziny białek regulatorowych w różnych sytuacjach patologicznych jak np. raki pęcherza moczowego czy też nowotwory przewodu pokarmowego. Szczególnie istotne znaczenie świadczące o oryginalności tematu dysertacji doktorskiej lek. med. Piotra Rubisza ma fakt, że w dostępnej literaturze medycznej można znaleźć jedynie **jedną** (sic!!!) pracę dotyczącą tego zagadnienia i to pochodzącą z roku 2012.

Cel pracy jest jasno sformułowany i dotyczy możliwości oceny potencjału proliferacyjnego komórek wchodzących w skład mięśniaków macicy w oparciu o ekspresję antygenu proliferacyjnego Ki-67 oraz białek rodziny MCM. Ponadto Autor postanowił skorelować uzyskane przez siebie wyniki z oceną ekspresji receptorów estrogenowych i progesteronowych w analizowanych próbkach tkankowych mięśniaków w nadziei znalezienia również powiązań z danymi kliniczno-patologicznymi operowanych z powodu mięśniaków pacjentek. Temat pracy jest niezwykle interesujący i oryginalny i to nie tylko z czysto poznawczego punktu widzenia, ale również może mieć potencjalne istotne znaczenie praktyczne o czym już wspomniałem wcześniej.

Na przeprowadzenie badań Autor uzyskał zgodę Komisji Bioetycznej przy Uniwersytecie Medycznym we Wrocławiu (Nr KB-587/2014 i KB-413/2017). Badania biochemiczne i immunocytochemiczne przeprowadzono w oparciu o ocenę skrawków tkankowych pobranych od 44 pacjentek operowanych z powodu mięśniaków macicy po

uzyskaniu od nich zgody oraz zebraniu bardzo szczegółowego wywiadu klinicznego dotyczącego symptomatologii związanej z patologią w obrębie mięśnia macicy.

Metody badawcze (mikromacierze tkankowe oraz ocena immunocytochemiczna) jak też przeprowadzona analiza statystyczne są prawidłowe i całkowicie adekwatne do postawionych w celu pracy zadań. Oczywistą limitacją jest tutaj liczba badanych pacjentek, co oczywiście nieco ogranicza możliwość wnioskowania populacyjnego, ale oczywiście nie ogranicza atrakcyjności i oryginalności prezentowanej pracy. Uzyskane wyniki Autor przedstawił w 13 szczegółowych Tabelach uzupełnionych starannie przygotowanymi 46 rycinami, co znacznie ułatwia analizę tego obszernego materiału klinicznego. Na podstawie uzyskanych wyników badań Autor wyciągnął 4 wnioski naukowe z których 3 pierwsze wynikają *stricte* z przeprowadzonych badań i analiz statystycznych a 4 jest raczej postulatem naukowych sugerującym przyszłe badania tego, jakże interesującego zagadnienia poznawczego. Całość uzupełnia bardzo dobrze napisana dyskusja świadcząca o dojrzałości naukowej lek. med. Piotra Rubisza. Właściwie dobrane i umiejętnie cytowane adekwatne piśmiennictwo w ilości 144 pozycji naukowych stanowi cenne uzupełnienie tej wartościowej dysertacji. Oczywiście Autor nie ustrzegł się drobnych błędów i nieścisłości, które proponuje poprawić przed ostatecznym skierowaniem dysertacji do publikacji, co jak miemam wkrótce nastąpi.

Uwagi szczegółowe

- Str. 6 – jest do badania wykorzystano 44 przypadki mięśniaków... powinno być wykorzystano skrawki tkankowe pobrane podczas operacji usuwania mięśniaków.. (nie badano przypadków tylko fragmenty tkankowe)
- Str. 7 jest białek MCM a liczba – powinno być białek MCM a liczbą...
- Str. 10 jest Forty four cases etc. powinno być fort four specimens from uterine fibroids etc.
- Str. 11. Jest and the number of both pownno być and the numbers of both
- Str. 12. BLM – czy na pewno to mięśniak rozwarstwiający??? Określenie angielskie mówi co innego metastasizing oznacza przezrutowy - *Mięśniak rozwarstwiający* to dissecting leiomyoma
- Str. 14 ta sama uwaga co powyżej

- Str. 15 podobnie
- Str. 19 jest: u kobiet odmiany czarnej etc odmiany białej etc odmiany żółtej etc. Doktorant wielokrotnie używa określenia w stosunku do rasy kaukaskiej odmiana biała czy też w stosunku do rasy czarnej odmiana czarna – strony. Nie są to określenia powszechnie stosowane w literaturze przedmiotu i dlatego należałoby wyjaśnić jaka klasyfikacją rasy Doktorant się posługuje. Tradycyjnie używane podziały ras opierają się na zewnętrznych, rzucających się w oczy cechach takich jak: kolor skóry, kształt czaszki lub twarzy, wzrost, kształt i kolor włosów; kolor oczu, oraz na samoidentyfikacji. Klasyfikacje gatunku ludzkiego obejmowały podział na grupy różnie nazywane przez twórców podziału. W czasach przed Linneuszem **Immanuel Kant** podzielił gatunek ludzki na cztery **odmiany** w zależności od zamieszkiwanego klimatu:

1. klimat zimny – Indianie, Eskimosi, Mongołowie – odmiana czerwona,
2. klimat gorący i suchy – Hindusi, Arabowie – odmiana żółta,
3. klimat wilgotny – Europejczycy – odmiana biała,
4. klimat ciepły i wilgotny – Murzyni – odmiana czarna.

W wydaniu XII dzieła Linneusza wydawca J.F. Gmelin zamieścił podział na 5 odmian nawiązujący do barwy skóry:

1. *Homo albus* (biały),
2. *Homo badius* (żółty),
3. *Homo niger* (czarny),
4. *Homo cupreus* (miedziany),
5. *Homo fuscus* (ciemny, brązowy).

W roku 1812 **Georges Cuvier** podzielił ludzi na trzy odmiany jako kryterium stosując wyłącznie barwę skóry (**chyba to jest podział stosowany przez Doktoranta**):

- **odmiana biała,**
- **odmiana czarna,**
- **odmiana żółta.**

Ponieważ nie są to wiadomości powszechnie znane antropologom, ale nie lekarzom, dlatego proponuje aby Autor mówiąc o odmianach ras ludzkich poinformował na jakich kryteriach się opierał zwłaszcza, że badania genetyczne ostatnich lat (projekt poznania ludzkiego genomu) nie wykazują, żeby pojęcie rasy (lub przynależności etnicznej) miało uzasadnienie genetyczne. Proponowałbym umieścić takie wyjaśnienie w ostatecznym teście pracy.

- Str. 37 – uwaga jak powyżej
- Str. 30 jest Ochronny wpływ stosowanej AH potwierdził... itd. Szyk tego zdania jest niepoprawny i musi być poprawiony
- Str. 28 jest Podstawową funkcją powinno być Podstawową funkcją

Te drobne uwagi, głównie natury redakcyjnej, nie wpływają oczywiście na generalnie wysoce pozytywną opinię o przedstawionej mi do recenzji pracy zatytułowanej „**Ekspresja białek proliferacyjnych MCM oraz antygenu KI-67 w mięśniakach macicy**”.

Recenzowana przeze mnie powyższa rozprawa doktorska spełnia warunki określone w art. 13 ust. 1 z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz.U. Nr 65, poz.595, z p. zm.) i dlatego wnoszę do Rady Wydziału Lekarskiego Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu o dopuszczenie **lek. med. Piotra Rubisza** do dalszych etapów przewodu doktorskiego. Jednocześnie wnioskuję o wyróżnienie dysertacji doktorskiej ze względu na jej oryginalność i wartość merytoryczną.



Prof. zw. dr hab. n med. Tomasz Rechberger