



ISO 9001:2008

www.tuv.com
ID 9105046955

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., „Analiza stężeń wybranych cytokin uczestniczących w procesach adipogenezy u chorych z zespołem policystycznych jajników – korelacja z parametrami metabolicznymi” przedstawionej przez lek. med. Sylwię Bednarską na stopień doktora nauk medycznych.

Przedłożona mi do recenzji rozprawa na stopień doktora nauk medycznych lek. med. Sylwii Bednarskiej dotyczy bardzo ważnego problemu w ginekologii i endokrynologii jakim jest zespół policystycznych jajników(PCOS). Zespół ten jest obecnie uważany za jedną z najczęstszych endokrynopatii wieku rozwojowego, obejmując każdy okres życia kobiety, ale największe spektrum objawów występuje w wieku reprodukcyjnym. Niejasna patogeneza zespołu oraz brak możliwości leczenia przyczynowego wzbudzają zainteresowanie wielu naukowców, co prowadzi do rozwijania na szeroką skalę badań i daje nadzieje na poprawę rokowania w tej grupie pacjentek. Najbardziej popularnymi kryteriami rozpoznania zespołu u dorosłych kobiet są kryteria Rotterdamskie (2004 r.), których spełnienie wymaga stwierdzenia 2 z 3 następujących objawów: zaburzeń owulacji, hiperandrogenizmu klinicznego lub/i biochemicznego oraz morfologii jajnika policystycznego w badaniu ultrasonograficznym. Zaburzenia miesiączkowania obserwujemy u około 93% kobiet z PCOS, przy czym 68% to zaburzenia o typie oligomenorrhoea, 21% to wtórny brak miesiączki a tylko 4% pierwotny brak miesiączki. Kliniczne cechy nadmiernej produkcji androgenów to przede wszystkim: trądzik, hirsutyzm, łysienie, przyrost masy mięśniowej, obniżenie barwy głosu czy przerost łechtaczki. Przez biochemiczny hiperandrogenizm rozumiemy podwyższenie stężenia androgenów we krwi przekraczające normy odpowiednie dla wieku i pochodzenia etnicznego. Oprócz hiperandrogenemii nierzadko obserwujemy w PCOS inne zaburzenia hormonalne takie jak: wysokie stężenie LH (często dwukrotnie przekraczające stężenie FSH), zwiększony wskaźnik LH/FSH, podwyższone stężenie estrogenów, prolaktyny, AMH a także obniżone stężenie SHBG. W zespole policystycznych jajników jednym z podstawowych zaburzeń jest insulinooporność, która jest kluczowa w kontekście współwystępujących zaburzeń metabolicznych i reprodukcyjnych. Czynniki wzrostu



fibroblastów, ze szczególnym uwzględnieniem FGF1,7,10,19 i 21, uczestniczą w regulacji gospodarki węglowodanowej i lipidowej, koordynują homeostazę energetyczną, a także redukują przewlekły stan zapalny, leżący u podstaw wielu chorób metabolicznych. Kobiety z PCOS wykazują insulinooporność, niezależnie od BMI, z uwagi na defekty fosforylacji receptora insuliny w fibroblastach. Czynniki wzrostu fibroblastów mogą wpływać na patogenezę PCOS, a także na wybrane parametry metaboliczne i hormonalne. Stężenia FGF21 i jego receptorów (FGFR1, β -Klotho) dodatnio korelują z insulinoopornością, a także ryzykiem wystąpienia cukrzycy typu 2 jako efektu kompensacyjnego powyższych zaburzeń.

Głównym celem pracy była ocena stężeń czynników wzrostu fibroblastów, ich receptorów i koreceptorów u kobiet z PCOS oraz kobiet zdrowych. Doktorantka oceniła różnice pomiędzy stężeniem FGFs, FGFRs i β -Klotho w grupie badanej i w grupie kontrolnej oraz określiła zależności pomiędzy stężeniami badanych czynników, a parametrami metabolicznymi i hormonalnymi. W pracy autorka poddała analizie różnice w stężeniach FGFs pomiędzy grupą szczupłych i otyłych kobiet z PCOS oraz podjęła próbę ustalenia czy czynniki te (FGF i/lub ich receptory czy ko receptory) mogą posłużyć do diagnostyki kobiet z PCOS.

Badanie uzyskało zgodę Komisji Bioetycznej przy Uniwersytecie Medycznym w Łodzi (numer RNN/109/14/KE z dnia 17 czerwca 2014 roku).

Grupę badaną stanowiło 67 kobiet, hospitalizowanych w Klinice Endokrynologii USK im WAM CSW w Łodzi z rozpoznaniem PCOS wg kryteriów Rotterdamskich. Pozostałe kobiety w liczbie 18 to pacjentki z grupy kontrolnej, u których wykluczono PCOS i hiperandrogenizm. Pacjentki zostały pisemnie i ustnie poinformowane o celu i procedurze badania, otrzymały również protokół jego przeprowadzenia. Każda wyraziła świadomą zgodę na uczestnictwo w badaniu. Wszystkie ochotniczki posiadały ubezpieczenie medyczne i były rodowitymi Polkami.

Analizie poddano 67 pacjentek z rozpoznaniem zespołem PCOS, hospitalizowanych w Klinice Endokrynologii. Wiek kobiet wynosił od 18 do 39 lat (średnia $25,8 \pm 5,2$). Grupę kontrolną stanowiło 18 zdrowych kobiet w wieku 19-37 (średnia $27,8 \pm 5,6$).

Materiał do badań stanowiły próbki krwi żyłnej (ok 5 ml) pobrane rano (około godz 7:00) podczas podstawowych badań diagnostycznych pomiędzy 2-9 dniem cyklu miesięczkowego. Oznaczenia czynników wzrostu fibroblastów dokonywano w surowicy, przechowywanej w temperaturze -80 st. C. Oznaczenia dokonywano metodą ELISA. W pracy dokonano oznaczenia stężeń czynników wzrostu fibroblastów oraz ich receptorów i koreceptorów: FGF 1,7,10,19,21, FGFR- Human Fibroblast Growth Factor Receptor - 1,2,4, β -Klotho.

W badaniach stwierdzono istotne statystycznie różnice pomiędzy grupami w zakresie masy ciała i BMI. Zanotowano istotne statystycznie odchylenia od rozkładu normalnego w przypadku FGFR2, FGFR4, FGFR1, FGF19, FGF7/KGF, FGF10, FGF21, β -Klotho, TSH,

LH, 17-OH, androstedionu, aTPO, aTG, ALT, insuliny w OGTT 60', insuliny w OGTT 120', oraz triglicerydów. Czynniki wzrostu fibroblastów analizowano jako predyktory występowania zespołu policystycznych jajników za pomocą logistycznej analizy regresji. Stwierdzono, że wszystkie FGFs występowały w wyższym stężeniu w grupie badanej niż w grupie kontrolnej. Istotnymi statystycznie predyktorami występowania zespołu policystycznych jajników były dokładne wartości FGFR1, FGF19 oraz β -Klotho, a także wartości β -Klotho wykraczające poza zakres referencyjny. Wyższe stężenia FGFR1, FGF19 oraz β -Klotho a także stężenia β -Klotho wykraczające poza zakres referencyjny zwiększały prawdopodobieństwo występowania zespołu policystycznych jajników. Stężenie β -Klotho poza zakresem referencyjnym było najlepszym predyktorem występowania zespołu policystycznych jajników. Na jego podstawie można było dokonać 78,8% poprawnych klasyfikacji osób badanych do grupy chorych lub zdrowych (bez określenia konkretnego punktu odcięcia stężenia β -Klotho). Autorka potwierdziła, że masa ciała nie wpływa znacząco na stężenia badanych cytokin oraz wykazała, iż spośród nowych czynników, które mogą być uznawane za predyktory wystąpienia PCOS to stężenie FGFR1 ($p=0,033$, OR=1,01), FGF19 ($p=0,031$, OR=1,01) oraz β -Klotho [dokładne ($p=0,022$, OR=1,01) wykraczają poza zakres referencyjny ($p=0,008$, OR=4,66)] i mogą mieć znacząca rolę. Kluczowym punktem do działania powyższych cytokin jest kompleks (α - β)-Klotho-FGFRs, który aktywuje szlaki działania FGF19, FGF21 i FGF23. FGF19, będący zarazem hormonem sytości, w połączeniu z kompleksem β -Klotho-FGFR4 jest wydzielany z jelit w odpowiedzi na dostarczany pokarm. W przedstawionych badaniach stężenia prolaktyny były znacznie wyższe w grupie z PCOS. Prolaktyna korelowała ponadto dodatkowo z wieloma cytokinami. Wykazano ujemną korelację aktywności ALT z wartościami FGF7 oraz FGF21, co może sugerować pozytywną rolę tych cytokin w komórce wątrobowej.

Podsumowując, można stwierdzić, iż wybrane czynniki wzrostu fibroblastów oraz ich receptory i koreceptory, mogą uczestniczyć w patogenezie omawianego PCOS, jak i schorzeniach o podłożu metabolicznym lub być miernikiem zdarzeń leżących u ich podłoża. Białka z rodziny FGF są aktywowane w różnych warunkach fizjologicznych i patologicznych. Mając jednocześnie funkcje antydiabetogenne, hipolipemizujące, kardioprotekcyjne, sprzyjają redukcji masy ciała oraz poprawiają profil metaboliczny. Może się to stać punktem wyjścia do opracowania nowych metod leczenia wielu jednostek chorobowych, w tym zespołu PCOS, którego, z uwagi na niejasną patogenezę, na chwilę obecną, nie potrafimy leczyć przyczynowo. Zasadne wydają się dalsze badania nad zastosowaniem wspomnianych cytokin jako jednej z opcji terapeutycznych w leczeniu wielu chorób.

Na podstawie przeprowadzonych badań autorka sformułowana jasne i czytelne wnioski które odpowiadają celom pracy.

1. Stężenia FGFs, ich receptorów i koreceptora β -Klotho różnią się istotnie pomiędzy PCOS a grupą kontrolną.

2. Średnie stężenia LH, progesteronu, androstendionu, testosteronu, DHEA-S i prolaktyny są wyższe w zespole PCOS.
3. Kwas moczowy wykazuje ujemną koreację z cytokinami, które prowadzą do poprawy funkcji nerek i wątroby, więc może przyczyniać się do rozwoju NAFLD czy niewydolności nerek.
4. U kobiet otyłych obserwuje się tendencję do występowania niższych stężeń FGFs niż u kobiet z prawidłową masą ciała.
5. Współwystępowanie w zespole Steina-Leventhala insulinooporności, otyłości i zaburzeń metabolicznych sugeruje wspólny czynnik etiologiczny tych zaburzeń. Jednocześnie wskazuje na zwiększone ryzyko sercowo-naczyniowe u tych kobiet.
6. Dalsze badania nad rolą FGFs, FGFRs i białka β -Klotho pozwolą w pełni wyjaśnić ich znaczenie w rozwoju, a niewykluczone także w diagnostyce i leczeniu PCOS.

Praca zawiera 98 stron maszynopisu podzielonego na 11 rozdziałów zawierających wykaz skrótów, wstęp, założenia i cel pracy, materiał i metody, wyniki, dyskusję, wnioski oraz piśmiennictwo i streszczenie w języku polskim i angielskim. W pracy ujęto również zgodę komisji bioetycznej, spis tabel, rycin. Całość uzupełnia 273 pozycji bardzo aktualnego piśmiennictwa.

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

1. Praca autorstwa lek. Sylwii Bednarskiej jest Jej samodzielny, 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 Sylwii Bednarskiej wykonana została z dbałością i obejmuje bardzo ciekawy materiał badawczy. Z obowiązku recenzenta pragnę zwrócić uwagę na kilka błędów o charakterze edytorskim jak np. strona 28 jest najlepiej zamiast najlepiej. Brak jest również w tekście pracy odnośnika do pozycji 119 piśmiennictwa. Wymienione uwagi nie umniejszają w żaden sposób wysokiej wartości tej 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. Sylwii Bednarskiej spełnia moim zdaniem warunki określone ustawą o stopniach naukowych i tytule naukowym. W związku z powyższym wnoszę do Rady Naukowej Uniwersytetu Medycznego w Łodzi o dopuszczenie lekarz Sylwii Bednarskiej do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Rzeszów, 07.03.2022

KIEROWNIK KLINIKI
Ginekologii i Położnictwa

Dr hab. n. med. Tomasz Kluz, Prof. UR