

Dr n.med. Tomasz Milewicz  
Klinika Endokrynologii Ginekologicznej UJ CM  
Katedra Ginekologii i Położnictwa UJ CM  
ul. Kopernika 23; 31-531 Kraków

Autoreferat

Dotyczący pracy naukowej, dydaktycznej i organizacyjnej

Autoreferat

1. Tomasz Milewicz
2. Dyplom lekarza medycyny; Wydział Lekarski Akademii Medycznej im.M.Kopernika w Krakowie.19.06.1992;  
Dyplom Cambridge First Certificate in English; Kraków 1994  
Dyplom Cambridge Proficiency in English; Kraków; 1994  
Dyplom specjalisty I stopnia z ginekologii i położnictwa; CMKP Warszawa; 1996  
Świadectwo umiejętności w zakresie ultrasonografii Polskiego Towarzystwa Ginekologicznego; Poznań; 1997  
Dyplom doktora nauk medycznych Wydział Lekarski Uniwersytetu Jagiellońskiego Collegium Medicum; Kraków; 1998; rozprawa doktorska tytuł: „*Poziom insulinopodobnego czynnika wzrostu-I (IGF-I) i białka wiążącego insulinopodobne czynniki wzrostu (IGFBP-3) w surowicy krwi u kobiet z zaburzeniami cyklu miesięczkowego*”  
Dyplom specjalisty II stopnia z ginekologii i położnictwa; CMKP Warszawa; 2001  
Dyplom specjalisty densytometrii klinicznej International Society of Clinical Densytometry; Warszawa; 2003  
Dyplom ukończenia kursu podstawowy Wiedeńskiej Szkoły Badań Klinicznych; Warszawa; 2003  
Dyplom Master of Bussiness Administration (MBA) w programie łączonym Uniwersytetu w Sztokholmie i Akademii Ekonomicznej w Krakowie; Sztokholm/Kraków; 2004  
Dyplom specjalisty z endokrynologii; CMKP Warszawa 2007.

3. Informacje o dotychczasowym zatrudnieniu w jednostkach naukowych/ artystycznych.

1992-2005 – asystent Klinika Endokrynologii Ginekologicznej UJ CM Kraków

2005- do chwili obecnej adiunkt Klinika Endokrynologii Ginekologicznej UJ CM

1992-2010 – asystent leczenia Oddział Kliniczny Endokrynologii Ginekologicznej Szpitala Uniwersyteckiego w Krakowie

2010-do chwili obecnej zastępca ordynatora Oddziału Klinicznego Kliniki Endokrynologii Ginekologicznej Szpitala Uniwersyteckiego w Krakowie.

4. Wskazanie osiągnięcia\* wynikającego z art. 16 ust. 2 ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. nr 65, poz. 595 ze zm.):

a) (autor/autorzy, tytuł/tytuły publikacji, rok wydania, nazwa wydawnictwa),

13. **Milewicz T.**, Kołodziejczyk J., Basta A., Kurek S., Sztefko K., Krzysiek J., Gregoraszczyk E.L.: Wydzielanie miejscowe insulinopodobnego czynnika wzrostu-I (IGF-I) przez wycinki nowotworów sutka pod wpływem hormonu wzrostu (GH). Pol.J.Gynaecol. Invest., 2001, 4 (2), 61-65

14. Gregoraszczyk E.L., **Milewicz T.**, Kołodziejczyk J., Krzysiek J., Basta A., Sztefko K., Kurek S., Stachura J.: Wydzielanie miejscowe hormonu wzrostu, insulinopodobnego czynnika wzrostu-I (IGF-I) i prolaktyny przez wycinki nowotworów sutka pod wpływem progesteronu. Gynecol.Endocrinol., 2001, 15, 251-258

17. **Milewicz T.**, Kołodziejczyk J., Krzysiek J., Basta A., Sztefko K., Kurek S., Stachura J., Gregoraszczyk E.L.: Cyproteron, norethisteron, medroksyprogesteron i levonorgestrel słabiej niż progesteron stymulują miejscowe wydzielanie ludzkiego hormonu wzrostu i insulinopodobnego czynnika wzrostu I z wycinków estrogenozależnego ludzkiego raka sutka. Gynecol.Endocrinol., 2002, 16, 319-329.

21. Krzysiek J., **Milewicz T.**, Augustowska K., Sztefko K., Ryś J., Zubeł A., Pityński K., Jaszczyński P., Herman K., Basta A., Stachura J., Gregoraszczyk E.L.: Wpływ progesteronu na lokalne jednoczesne wydzielanie IGFBP-3/IGF-I (wskaźnik IGFBP-3/IGF-I) przez wycinki prawidłowej i nowotworowej tkanki sutka zależy od tkankowego fenotypu receptorów steroidowych. Gin.Pol., 2003, 74, 9, 767-774.

23. **Milewicz T.**, Gregoraszczyk E.L., Sztefko K., Augustowska K., Krzysiek J., Ryś J.: Brak wspólnego wpływu in vitro estradiolu i progesteronu na wydzielanie miejscowe IGF-I, IGFBP-3 oraz IGFBP-2 tak przez hormonalnie zależne i niezależne wycinki tkanki nowotworu sutka. Rola tamoxifenu i mifepristonu (RU 486). Growth Hormone & IGF Research, 2005, 15, 140-147

24. **Milewicz T.**, Gregoraszczyk E.L., Augustowska K., Krzysiek J., Sztefko K., Ryś J.: Progesteronu w przeciwieństwie do 17 $\beta$  estradiolu nasila lokalne wydzielanie GH przez wycinki tkanki hormonalnie zależnego nowotworu sutka. Badanie in vitro. Exp Clin Endocrinol Diabetes, 2005, 113, 127-132.

25. Malewski T., **Milewicz T.**, Krzysiek J., Gregoraszczyk E.L., Augustowska K.: Regulacja ekspresji genu Mx2 przez hormony steroidowe w hodowlach in vitro wycinków prawidłowej i nowotworowej tkanki sutka. Cancer Investigation, 2005, 23, 218-224

49. Milewicz T, Ryś J, Wójtowicz A, Stochmal E, Jach R, Krzysiek J, Gregoraszczyk E, Huras H, Dziadek O. Nadmierna ekspresja białka P53, a lokalne wydzielanie hGH, IGF-I, IGFBP-3, IGFBP-2 oraz PRL przez wycinki ludzkiego nowotworu piersi. Neuro Endocrinol Lett. 2011;32(3):328-33.

b) omówienie celu naukowego/artystycznego ww. pracy/prac i osiągniętych wyników wraz z omówieniem ich ewentualnego wykorzystania.

#### Główny kierunek badań

Pierwsze doświadczenia badawcze zdobywałem pod kierunkiem Prof dr hab.n. med. Józefa Krzyśka od roku 1994. Prowadziłem w tym okresie badania dotyczące stężeń insulinopodobnego czynnika wzrostu-I (IGF-I), insuliny, hGH oraz prolaktyny w surowicy, które wykazały spadek z wiekiem stężeń IGF-I a także korelację pomiędzy poziomami insuliny i prolaktyny u kobiet nieplodnych (2, C1). Wykazano również wprost proporcjonalną zależność stężeń insuliny od stężeń prolaktyny w grupie pacjentek z hiperprolaktynemią (4, B5). W tej samej grupie pacjentek wykazano także najwyższe stężenia IGF-I, hGH oraz insuliny w porównaniu do innych grup pacjentek z zaburzeniami regularności cykli według podziału WHO (4, A3, B1). Analizując grupy kobiet z nieprawidłowym obrazem tomograficznym przestrzeni wewnątrzsiodłowej stwierdzono najniższy poziom IGF-I w grupie kobiet z zespołem pustego siodła tureckiego oraz brak w tej grupie korelacji pomiędzy wiekiem, a poziomami IGF-I. Nie wykazano natomiast związku pomiędzy stężeniami hGH i IGF-I, w tej grupie pacjentek oraz w grupie pacjentek z mikrogruczolakiem przysadki (6, A4, B2, B6).

**Rozwinięciem i uzupełnieniem wyników tych badań była moja obroniona z wyróżnieniem w lutym 1998 roku rozprawa doktorska zatytułowana: Poziom insulinopodobnego czynnika wzrostu-I (IGF-I) i białka wiążącego insulinopodobne czynniki wzrostu (IGFBP-3) w surowicy krwi u kobiet z zaburzeniami cyklu miesięczkowego Uniwersytet Jagielloński, 20.02.1998.** Promotor: doc.dr hab.n.med. Józef Krzysiek recenzenci: doc.dr. hab.n.med. Krystyna Sztefko, Prof. dr. hab.n.med. Stanisław Radowski.

Wynikiem tych badań było wykazanie roli stanu odżywienia oraz stężeń hGH, insuliny, estradiolu, IGF-I w regulacji stężeń IGFBP-3 jak również sugerujące rolę insuliny w regulacji stężeń IGF-I w zespole PCO. Ponadto wykazanie nie tylko wieku kobiet ale także roli estradiolu, w regulacji stężenia IGF-I. Wyniki tych badań przedstawiłem na 13 kongresie EAGO oraz 4 Europejskim Kongresie Endokrynologii oraz opublikowałem w Endokrynologii Polskiej (A12, A13, A14, A15, 29).

Kolejnym etapem moich badań nad rolą układu hGH-IGF-IGFBP u kobiet były prace nad wpływem tych hormonów na procesy miażdżycowe u kobiet po menopauzie. Wykazano w grupie 65 kobiet po menopauzie odwrotną korelację pomiędzy stężeniami IGF-I i hGH, a stężeniem stałych produktów peroksydacji lipidów oraz podatnością LDL na oksydację ochronną rolę (A16).

Rozpoczęta w roku 1999 współpraca za Zakładem Fizjologii i Toksykologii Rozrodu kierowanym przez panią Prof.dr hab. Ewę Gregoraszczyk pozwoliła na dalszą kontynuację moich badań nad insulinopodobnym czynnikiem wzrostu-I już na poziomie tkankowym. Wynikiem tych badań było odkrycie opublikowane w 2001 roku stymulacji wydzielania IGF-I, hormonu wzrostu i prolaktyny poprzez progesteron przez tkankę nowotworu sutka u kobiet (13, 14, A27, A29). W badaniach tych wykazano także zależność odpowiedzi tkanki na stymulację progesteronem od fenotypu receptorowego tkanki. Tkanki nowotworu sutka jak również tkanki zdrowe otaczające ognisko nowotworu reagowały wzrostem wydzielania IGF-I i prolaktyny na ekspozycję na progesteron jedynie jeśli wykazywały ekspresję receptora progesteronowego (14). Tkanki nowotworu sutka wykazujące ekspresję receptorów dla steroidów płciowych poddane w hodowli ekspozycji na progesteron zwiększały wydzielanie hormonu wzrostu. W przypadku zdrowej tkanki sutka otaczającej ognisko nowotworu taki wzrost wydzielania hormonu wzrostu obserwowano wyłącznie w tkance wykazującej ekspresję receptorów progesteronowych (14). Wykazałem, że wzrost wydzielania IGF-I pod wpływem hormonu wzrostu tak w tkance nowotworowej jak i w tkance prawidłowej sutka otaczającej zmianę nowotworową zależy od ekspresji receptora progesteronowego (13). Kolejnym etapem badań była analiza wpływu egzogennych gestagenów na wydzielanie IGF-I i hGH z tkanki nowotworu sutka. Medroxyprogesteron i levonorgestrel zwiększyły zarówno wydzielanie hormonu wzrostu tak z tkanki nowotworu sutka jak i tkanki zdrowej otaczającej ognisko nowotworu wykazujących ekspresję receptora progesteronowego, podczas gdy cyproteron wykazał stymulujące działanie tylko w odniesieniu do tkanki zdrowej. Octan cyproteronu natomiast zwiększał wydzielanie IGF-I tak z tkanki zdrowej jak i nowotworowej wykazującej ekspresję receptora progesteronowego w sposób podobny do naturalnego progesteronu (B27). Jednocześnie medroxyprogesteron i levonorgestrel wywołały spadek wydzielania IGF-I w prawidłowej tkance sutka wykazującej ekspresję receptorów estrogenowych oraz w tkance nowotworu wykazującej ekspresję receptorów progesteronowych. Wszystkie badane gestageny nie wykazywały stymulującego efektu na wydzielanie hormonu wzrostu w tkankach wykazujących ekspresję receptora estrogenowego bez względu na ich stopień przekształcenia nowotworowego natomiast wykazywały hamujący wpływ na wydzielanie IGF-I w tkance nowotworu sutka wykazującej ekspresję receptorów

estrogenowych i progestagenowych (17). *Praca ta została nagrodzona przez International Menopause Society nagrodą Roberta Greenblatta za rok 2002.*

Kolejnym etapem badań było analiza biodostępności IGF-I w tkance sutka. Wykonałem ją poprzez analizę wskaźnika stężeń IGFBP-3/IGF-I wydzielanych do medium hodowlanego. Progesteron zwiększał (obniżenie wartości wskaźnika) lokalną biodostępność IGF-I w tkance nowotworu sutka. Zjawisko to zależało od fenotypu receptorowego tkanki i było najsilniej wyrażone w przypadku wyłącznej ekspresji receptora progesteronowego w tkance nowotworowej. W prawidłowej tkance otaczającej ognisko nowotworu zjawisko to obserwowano także w przypadku ekspresji receptora estrogenowego. Brak ekspresji receptorów dla steroidów płciowych odwracał to zjawisko (21, A35, A49).

W dalszych badaniach, obejmujących ekspozycję tkanki nowotworu sutka i tkanek otaczających na jednoczesną podaż estradiolu i progesteronu oraz wpływ blokerów ich receptorów takich jak tamoxifen i mifepriston (RU486), wykazano że ekspozycja na estradiol i progesteron podane osobno, jak i równocześnie wpływa stymulująco na wydzielania IGF-I, IGFBP-2 i hamująco na wydzielania IGFBP-3. Blokowanie receptorów estradiolu tamoxifinem (ER) skutkowało zahamowaniem sekrecji IGF-I w tkance nowotworu sutka wskazując na rolę receptorów ER. Nie wykazałem synergistycznego wpływu estradiolu i progesteronu na wydzielanie IGF-I i białek wiążących IGF, wykazując jednocześnie ochronne działanie substancji blokujących receptor estrogenowy i progesteronowi (23, A34, A45, B33).

Badanie proliferacji tkanki nowotworu sutka po ekspozycji tkanki na steroidy płciowe stanowiło kolejny etap badań. Progesteron stymulował wydzielanie hormonu wzrostu z tkanki nowotworu piersi z receptorami estrogenowymi i progesteronowymi. Mifepristone nie hamował tego efektu. Wydzielanie hormonu wzrostu nie zbiegało się w czasie z nasileniem proliferacji komórek. Estradiol nie wpływał na wydzielanie hormonu wzrostu z tkanki nowotworu sutka bez względu czy wykazywała czy nie ekspresję receptorów estrogenowych i progesteronowych. Jednak w przypadku tkanki nowotworu sutka hormonalnie zależnej tamoxifen zmniejszał wydzielanie tego hormonu przy jednoczesnym zmniejszeniu proliferacji tkanki. Jednoczesna podaż estradiolu i progesteronu nasilała wydzielania hormonu wzrostu i proliferację tkanki nowotworu sutka. Zastosowanie tamoxifenu i mifepristonu nie powodowało zmniejszenia wydzielania hormonu wzrostu, ale obniżało proliferację tkanki nowotworu sutka hormonalnie zależnej. Zjawisk tych nie obserwowałem w tkance nowotworu sutka bez ekspresji receptorów (24, B32).

Kolejnym etapem badania wpływu steroidów płciowych na proliferację tkanki nowotworu sutka było zbadanie ekspresji genu Msx 2 w wycinkach nowotworu sutka i prawidłowej tkanki otaczającej. Estradiol wpływał na ekspresję genu Msx2. Znamienne,

trzynastokrotne zwiększenie ekspresji tego genu poprzez pomiar mRNA w odniesieniu do genu kontrolnego G3PDH występowało po stymulacji estradiolem tkanki prawidłowej otaczającej nowotwór i wykazującej ekspresję receptorów estrogenowych i progesteronowych. Po równoczesnym podaniu estradiolu i progesteronu ekspresja tego genu dwudziestokrotnie wzrastała i była znamienne wyższa od stymulowanej samym estradiolem. W przypadku tkanki nowotworowej o tym samym fenotypie receptorowym nie obserwowano takiego zjawiska. W przypadku obecność jedynie ekspresji receptora estrogenowego obserwowano zjawisko odwrotne – dwu do trzykrotne hamowanie ekspresji genu Msx2 tak po ekspozycji zarówno na estradiol jak i łączną ekspozycję na estradiol i progesteron.. W przypadku tkanki hormonalnie niezależnej dodatek obu hormonów zwiększył ponad 6 krotnie w tkance nie nowotworowej i 1,7 krotnie tkance nowotworowej ekspresję badanego genu (25, A44).

Ostatnim dotychczas opublikowanym etapem badań była analiza wydzielania hGH, IGF-I, IGFBP-3, IGFBP-2 i prolaktyny w zależności od ekspresji białka p53. Wydzielanie hGH z wycinków nowotworu sutka było dwukrotnie wyższe w wycinkach wykazujących dodatnią reakcję immunohistochemiczną na białko p53 w porównaniu z tkanką nie wykazującą tej reakcji immunohistochemicznej. Odwrotny efekt obserwowano w przypadku wydzielania IGF-I, IGFBP-2, IGFBP-3. Brak wpływu ekspresji p 53 wykazano w przypadku wydzielania prolaktyny. Nie stwierdzono natomiast korelacji pomiędzy stopniem ekspresji białka p53, a nasileniem wydzielania badanych hormonów. Może to sugerować istnienie lokalnych tkankowych powiązań pomiędzy p53, a osią hGH/IGF/IGFBP oraz sugerować istnienie lokalnego tkankowego sprzężenia zwrotnego pomiędzy hGH i IGF-I (49, B18). Uzyskane wyniki wykazały różny wpływ gestagenów na wydzielanie IGF-I oraz hGH w zależności od tkanki na którą działają. Pozwalają wykazać rolę progesteronu i gestagenów stosowanych w środkach antykoncepcyjnych i hormonalnej terapii zastępczej u kobiet po menopauzie w etiopatogenezie nowotworów sutka. Mogą się także przyczynić do wykazania których z gestagenów ma największy potencjał stymulacji rozrostu guza. Może się to przyczyn do wskazania kierunków badań na nowymi typami gestagenów nie wykazujących stymulującego wpływu na układ IGF-I/hGH oraz działania proliferacyjnego na tkankę sutka.

5. Omówienie pozostałych osiągnięć naukowo - badawczych (artystycznych).

#### *Funkcja śródbłonna naczyń u kobiet po menopauzie*

Od roku 1997 uczestniczyłem w zespole badawczym zajmującym się badaniami nad funkcją śródbłonna naczyń u kobiet po menopauzie oraz wpływem hormonalnej terapii zastępczej na

procesy miażdżycowe u kobiet w tym okresie życia. Wykazano zwiększenie wydzielania tlenu azotu oraz spadek wydzielania endoteliny-1 po stosowaniu przezskórnej suplementacji 17 $\beta$ -estradiolu wraz z doustną podażą octanu medroxyprogesteronu (B4, B9, B10, B19). Następnie porównaliśmy działanie na śródbłonek naczyń hormonalnej terapii do działania inhibitorów HMG-CoA reduktazy (statyn). Oba typy leczenia wykazywały podobny protekcyjny wpływ na funkcję śródbłonka naczyń przez poprawę stężeń lipidów oraz wskaźnika NO/Et-1. Wpływ hormonalnej terapii rozpoczynał się już w trzecim miesiącu stosowania, a statyn dopiero po 6 miesiącach ich podaży (7, 8, 9, A18, A19, A21, A23, A25, B15). Wykazano także obniżenie podatności LDL na oksydację z okresową korzystną zmianą fenotypu B LDL na mniej aterogenny fenotyp A w obu typach leczenia. Leczenie statynami doprowadziło do obniżenia poziomu nadtlenków osocza i spadku stężenia cholesterolu frakcji LDL. Podobną tendencję obserwowano w trakcie stosowania terapii hormonalnej (C5, B16). Wykazałem także rolę doboru drogi podania oraz rodzaju gestagenu w poprawie stężeń lipidów po menopauzie (35).

#### Układ IGF/IGFBP w trakcie hormonalnej terapii zastępczej

Udało mi się połączyć moje zainteresowania układem hGH/IGF/IGFBP z badaniami nad wpływem hormonalnej terapii zastępczej na zdrowie kobiet po menopauzie i wykazać iż podaż 17 $\beta$ -estradiolu powoduje wzrost stężenia wolnego i całkowitego IGF-I przy jednoczesnym wzroście wartości wskaźnika wolny IGF-I/całkowity IGF co powoduje wzrost biodostępności IGF-I (B31). Ponadto wykazałem także rolę drogi podania estradiolu na aktywność osi IGF/IGFBP-1/IGFBP-3. Najniższy poziom IGFBP-3 obserwowałem po roku doustnej podaży 17 beta estradiolu wraz z doustną podażą octanu norethisteronu (47,48, A48, B26).

Wpływ hormonalnej terapii zastępczej na wrażliwość receptora insulinowego u kobiet po menopauzie.

Wykazałem iż typ zastosowanego w hormonalnej terapii zastępczej (HTZ) gestagenu w większym stopniu niż droga podania estradiolu może mieć wpływ na zmiany metabolizmu glukozy u kobiet po menopauzie (33). Byłem również współautorem pracy porównującej wpływ podaży przez skórnej estradiolu wraz z octanem medroxyprogesteronu do podaży statyn na poziomie glikemii i insulinemii u kobiet po menopauzie. W grupie pacjentek z prawidłową tolerancją glukozy HTZ zwiększała stężenie glukozy i insuliny w surowicy na czczo i w trakcie doustnego obciążenia glukozą. Zmiana rodzaju gestagenu z medroxyprogesteronu na dydrogesteron znosiła to zjawisko. Statyny u pacjentek z

zaburzeniem tolerancji glukozy obniżała stężenie insuliny na czczo (33, 34, A22, A37, B28). Kolejnym etapem tych badań była analiza wpływu drogi podania terapii hormonalnej na oś inkretynową u kobiet po menopauzie. Po 12 miesiącach stosowania przez skórnej suplementacji estradiolem z dodatkiem dydrogesteronu stwierdzono obniżenie stężenia glukozy na czczo i po posiłku. Doustna podaż estradiolu z tym samym typem gestagenu obniżyła tylko poziom glikemii na czczo. Droga podaży estradiolu nie wpłynęła na obniżenie stężeń insuliny po posiłku. Poziomy GLP-1 i GIP tak na czczo, jak po posiłku obniżyły się po 6 i 12 miesiącach przez skórnej suplementacji estradiolu. Podaż doustna estradiolu nie wywierała już takiego efektu. Terapia hormonalna nie wpłynęła na stężenia cholecystokininy (26, A26, A38, A41, B34). Następnym etapem tych badań była ocena wpływu zastosowanego rodzaju gestagenu i drogi podania estradiolu na stężenie inkretyn u kobiet po menopauzie. Wykazano iż gestageny będące pochodnymi progesteronu wpływały korzystnie na aktywność osi inkretynowej, a gestageny – pochodne testosteronu, nie powodowały tego efektu (45, A42).

Wykazaliśmy także równoważność efektu dawki 50 ug estradiolu i 25 ug estradiolu w oddziaływaniu na stężenia lipidów i insuliny w surowicy krwi u kobiet po menopauzie stosujących terapię hormonalną (A8, B3, B35, B37, B43).

Badania nad wpływem wysiłku fizycznego na zdrowie kobiet po menopauzie

Uczestniczyłem w badaniach nad wpływem wysiłku fizycznego na funkcję śródbłónka u kobiet po menopauzie. Standartowy wysiłek fizyczny powodował wzrost aktywności czynnika von Willenbrandta o 11,4% oraz wzrost 4 krotny stężenia  $\beta$ -tromboglobuliny. Zmiany te nie ustępowały po 15 minutach odpoczynku. Na szczycie wysiłku fizycznego występował wzrost stężenia endoteliny-1 o 15,5%. Otyłość i hipercholesterolemia niekorzystnie modyfikują aktywność opisanych powyżej czynników (15 A24, A46, A47, A50, B25, B42). *Badania te zostały nagrodzone przez Japońskie Towarzystwo Menopauzalne w 1999 r.* Wykazałem także iż stężenia cząsteczek adhezyjnych (ICAM, VCAM) i mediatorów zapalenia (TNF-a) w trakcie wysiłku fizycznego jest wyższe u kobiet po menopauzie z czynnikami ryzyka miażdżycy (32).

Badania nad wpływem hormonalnej terapii na czynność autonomicznego układu nerwowego u kobiet po menopauzie

W badaniach nad wpływem ciągłej złożonej terapii zastępczej na funkcję motoryki górnego odcinka przewodu pokarmowego. Zastosowanie przez skórnej podaży estradiolu wraz z doustną podażą dydrogesteronu spowodowało przywrócenie wzorca motoryki górnego



odcinka przewodu pokarmowego występującego przed okres menopauzy (16, A39). Podobne wyniki przywrócenia czynności sprzed rozpoczęcia niedoboru estrogenów obserwowano w przypadku zaburzeń czynności sercowego autonomicznego układu nerwowego (cANS). Wprowadzenie terapii zastępczej spowodowało powrót parametrów fizjologicznej zmienności rytmu serca do wartości obserwowanych przed rozpoczęciem okresu niedoboru estrogenów (22).

#### Badania nad aktywnością hormonalną tkanki tłuszczowej

W grupie pacjentek w okresie około menopauzalnym zależności pomiędzy stężeniem leptyny w surowicy, a stężeniami testosteronu, insuliny, TNF- $\alpha$ , wskaźnikiem WHR występowały tylko w grupach kobiet z czynnikami ryzyka miażdżycy (androidalny rozkład tkanki tłuszczowej, nadwaga, wysoki poziom testosteronu i TNF- $\alpha$ )(31, 75, A11, A31, A32, B12, B13, B14, B21, B22, B24). W tej samej grupie kobiet w okresie okołomenopauzalnym wykazano iż nie tylko masa ciała i stosowane rodzaje terapii hormonalnej, lecz także stężenia insuliny, SHBG i hormonów płciowych wywierają wpływ na stężenie leptyny w tym okresie życia u kobiet (30, A17, A20, A 33, B7, B8, B23).

#### Badania w perinatologii

Od rozpoczęcia pracy Katedrze Endokrynologii i Płodności kierowanej przez prof. dr ab.n.med. Rudolfa Klimka uczestniczyłem w pracach badawczych na rolę suplementacji hormonów podwzgórzowych w ciążach o przebiegu powikłanym niewydolnością łożyska. Wykazano iż w ciążach z niewydolnością łożyska stężenie enzymu oksytocynaza i jego tkankowego odpowiednika izooksytocynazy jest niższe i dlatego pomiar aktywności tego enzymu może być wskaźnikiem wydolności łożyska. Wykazano także iż podaż syntetycznego ACTH zwiększa aktywność tego enzymu i zwiększa wydolność łożyska (77, 78, A1, A6, A7). Wykazałem konieczność stosowania preparatów żelaza o kwaśnym pH w leczeniu niedokrwistości ciężarnych (1). Kontynuując moje zainteresowania hormonalną funkcją łożyska prowadziłem wspólnie z dr hab. Adamem Grochowalskim z Wydziału Chemii Politechniki Krakowskiej, prof. Ewą Gregoraszczyk z Pracowni Fizjologii i toksykologii Rozrodu Instytutu Zoologii UJ oraz dr hab. Anną Wojtowicz z Katedry Hodowli Trzody Chlewniej i Małych Przeżuwaczy Uniwersytetu Rolniczego w Krakowie badania nad czynnością wydzielniczą łożyska po ekspozycji na wybrane środowiskowe związki zaburzające układ endokryny (*ang. endocrine disruptors*) takie jak dioksyny, polichlorowane bifenyly oraz pestycydy. W badaniach tych wykazano najwyższe stężenia kongeneru PCB 126 stwierdzono w łożyskach kobiet palących w ciąży. Stwierdzono także wpływ dioksyn na

produkcję estradiolu w łożysku zależny od stężenia kongenerów. Wysokie dawki hamowały produkcję estradiolu z DHEAS i testosteronu, a niskie ją stymulowały.

Stwierdzono także wpływ dioksyn na produkcję estradiolu w łożysku zależny od stężenia kongenerów. Wysokie dawki hamowały produkcję estradiolu z DHEAS i testosteronu, a niskie ją stymulowały (12, 18, B17, B29). Ponadto wykazaliśmy wpływ tetrachlorodibenzo-p-dioxyiny na czynność cytochromu p450 scc w łożysku oraz wykazano różnice pomiędzy wpływem czystej tetrachlorodibenzo-p-dioxyiny, a wpływem mieszaniny dioksyn na syntezę progesteronu w łożysku. Wyjaśnieniem tego zjawiska może być obecność pentachlorodibenzo-p-dioxyiny (PeCDD) oraz pentachlorodibenzo-furanu (PeCDF), które odpowiadają za ponad 50% toksyczności mieszaniny (19). Obserwowano także wzrost produkcji estradiolu z DHEAS dopiero po długotrwałej ekspozycji wycinków z łożysk na TCDD. Ekspozycja na PCDD w mieszaninie z PCDF powodowała wzrost produkcji estradiolu bez względu na czas jej trwania. Żadnemu z tych wzrostów nie towarzyszył wzrost syntezy progesteronu (20). Z kolei badania dotyczące wpływu pestycydu - DDT oraz jego metabolitu DDE na syntezę hormonów w łożysku wykazały na spadek sekrecji zarówno estradiolu jak i progesteronu hodowli *in vitro* eksplantów łożysk (37). Wykazano także hamujący wpływ DDT i DDE na syntezę hCG (38, B41).

Uczestniczyłem także w badaniach nad rolą suplementacji kwasu foliowego u ciężarnych w ochronie DNA przed uszkodzeniem. Wykazano nawet wysoka podaż kwasu foliowego nie jest wystarczająca do ochrony DNA jeśli nie towarzyszy jej wystarczające stężenie witaminy B12 (28, A43, B30). Wykazano iż 400 pg/ml jest stężeniem witaminy B12 wystarczającym do ochrony stabilności genomu przy dodatniej równowadze folianów i zależy także od genotypu MTHFR (27).

Uczestniczyłem również w badaniach nad opracowaniem metody oznaczania witaminy A i E w surowicy krwi (40).

Prowadziłem także badania na rolę bakteryjnego zapalenia pochwy w patomechanizmie porodu przedwczesnego wykazując częstsze występowanie tej infekcji w przypadkach porodu przedwczesnego (43).

Wykazałem także, że około 2/3 ciężarnych z Krakowa i okolic przyjmuje rekomendowaną dobową dawkę jodu (46), a jedynie 1/3 ciężarnych ma wykonywane przesiewowe badanie czynności tarczycy w ciąży (50). Czynnikiem wpływającym na zgłaszalność do tego badania są: wiek, miejsce zamieszkania oraz wykształcenie ciężarnych (50, B39). Obserwowano także częstsze występowanie przeciwciał przeciwtarczycowych przeciw peroksydazie tarczycowej oraz tyreoglobulinie u ciężarnych leczonych uprzednio z powodu niepłodności (A30).

Uczestniczyłem w pracach zespołu nadzorującego przebieg ciąży u pacjentki z cukrzycą noworodkową leczoną pochodnymi sulfonilomocznika (52).

#### *Badania w zakresie niepłodności*

Od rozpoczęcia pracy zawodowej w Katedrze Endokrynologii i Płodności i następnie w Klinice Endokrynologii Ginekologicznej uczestniczyłem w projektach badawczych w zakresie niepłodności. Wykazano podwyższone poziomy Ca-125 i CEA u pacjentek w ciąży i leczonych z powodu niepłodności (C3) Wykazałem konieczność stosowania osłony antybiotykowej w pacjentkach u których wykonywano operacje z dostępu laparoskopowego z powodu niepłodności (A2, C2). Uczestniczyłem w badaniach nad stosowaniem pulsacyjnej podaży GnRH w przypadkach niepłodności wynikającej z braku jajczkowania (3, A5, B11, B20). Wykazano wyrzut prolaktyny u pacjentek z PCOS leczonych pulsacyjną podażą GnRH (10, A29). Wykazano, że w grupie pacjentek z PCOS po nieudanej podaży antagonistów receptora estrogenowego i laparoskopowej elektrokoagulacji jajników pulsacyjna podaż GnRH powodowała uzyskanie owulacji w 87,5% przypadków i u 25% kobiet uzyskano ciążę (11). Dalsze badania nad rolą PCOS w etiologii niepłodności wykazały iż zespół policystycznych jajników u kobiet z prawidłową masą ciała nie powoduje zmniejszenia tkankowego zużycia glukozy (36, B36).

Uczestniczyłem także w badaniach nad poziomami inhibiny B u kobiet z I i III grupą zaburzeń cykli miesięczkowych według WHO (A36) oraz nad zastosowaniem pomiarów hormonu antymüllerowskiego (AMH) jako testu oceny rezerwy jajnikowej (C6).

Uczestniczyłem również w badaniach nad rolą feromonów w niepłodności męskiej. Partnerzy pacjentek z hirsutyzmem i niepłodnością mieli mniejszą liczbę plemników niż partnerzy kobiet bez hirsutyzmu (5).

Brałem udział w polsko norweskich badaniach porównujących wpływ leków przeciwpadaczkowych levetiracetamu (LEV) i kwasu walproinowego (VPA) na funkcję jajników. VPA obniżał podstawowe i stymulowane przez FSH wydzielanie estradiolu przez hodowlę komórek warstwy ziarnistej jajnika. LEV nie wpływał na wydzielanie estradiolu. Oba leki nie wpływały na aktywność aromatazy CYP 19 w warunkach podstawowych, natomiast po stymulacji FSH obniżały jej aktywność. Obniżały także aktywność kaspazy-3. Proapoptotyczny efekt LEV był bardziej nasilony niż efekt VPA (41).

Wykazano również skuteczność zastosowania analogów GnRH w terapii kobiet z nasilonym hiperandrogenizmem, nie poddających się standardowym metodom leczniczym (A9, B38, C4).

*Badania nad hormonalnymi mechanizmami wpływającymi na modyfikowalne czynniki ryzyka miażdżycy*

Kontynuując moje badania nad hormonalnymi mechanizmami wpływającymi na modyfikowalne czynniki ryzyka miażdżycy, we współpracy z II Kliniką Kardiologii UJ CM uczestniczyłem w badaniach nad rolą procesu zapalnego w progresji zwężenia zastawki aortalnej. Wykazano istnienie wspólnych czynników ryzyka progresji zwężenia lewego ujścia tętniczego oraz postępu procesu miażdżycowego. Zalicza się do nich palenie tytoniu, wzrost stężenia lipoproteiny (a) i trójglicerydów, spadek stężenia HDL-cholesterolu (39, 42, 44, A40).

Tomasz Miliński