



**prof. dr hab. n. med. Robert Spaczyński**  
*specjalista ginekologii i położnictwa*  
*specjalista w endokrynologii ginekologicznej*  
*i rozrodczości*  
*endokrynolog*

Poznań, 24.10.2017

## **OCENA ROZPRAWY DOKTORSKIEJ**

**Lek. med. Jakuba Wyroby**

**p.t. „Evaluation of conservative treatment of ectopic pregnancy with methotrexate with particular focus on pregnancy outcomes and early biochemical diagnostics.”**

Ciąża pozamaciczna dotyczy minimum około 1-2% wszystkich ciąż i nadal stanowi problem diagnostyczny oraz terapeutyczny, skutkując w niektórych wypadkach poważnymi powikłaniami, a nawet zgonem kobiety ciężarnej. Wprowadzenie do praktyki ginekologicznej wczesnego rozpoznawania ciąży pozamacicznej opartego na badaniu ultrasonograficznym i biochemicznym oznaczeniu beta podjednostki gonadotropiny kosmówkowej (beta-hCG) znacząco obniżyło odsetek powikłań i umieralność kobiet w pierwszym trymestrze ciąży. Wprowadzone do praktyki ginekologicznej, na początku lat 90-tych ubiegłego wieku, zachowawcze metody leczenia ciąży pozamacicznej z zastosowaniem antagonisty kwasu foliowego - metotreksatu - stały się powszechną praktyką kliniczną, dającą w wybranych grupach pacjentek bardzo dobre efekty lecznicze, porównywalne do postępowania chirurgicznego. Dlatego też problem badawczy podjęty w przedstawionym doktoracie jest aktualny, ciekawy poznawczo, ale przede wszystkim niezwykle istotny dla codziennej praktyki lekarzy ginekologów.

Rozprawa doktorska lek. med. Jakuba Wyroby p.t. „*Evaluation of conservative treatment of ectopic pregnancy with methotrexate with particular focus on pregnancy outcomes and early biochemical diagnostics.*” została przygotowana w oparciu o cykl

trzech opublikowanych w latach 2014-2017 prac oryginalnych. Fakt, że prace te zostały uprzednio zrecenzowane i zakwalifikowane do druku w wartościowych periodykach medycznych czyni pracę obecnego recenzenta łatwiejszą i przyjemniejszą. Niemniej jednak recenzent przedstawi poniżej charakterystykę opublikowanych prac wraz z krótką opinią.

### **1. Ginekologia Polska 2014; 85: 23**

Celem przedstawionej pracy była ocena płodności u pacjentek leczonych metotreksatem z powodu rozpoznanej ciąży pozamacicznej, jak również zbadanie efektywności i bezpieczeństwa tej zachowawczej terapii. Badanie przeprowadzono na grupie 86 ( $30\pm 5$  lat) kobiet z rozpoznaną ciążą pozamaciczną. Dwanaście kobiet (14%) operowano, a 73 (85%) pacjentki leczono metotreksatem (2007-2011) w schemacie „pojedynczej dawki” 50mgMTX/m<sup>2</sup> BSA. W grupie chorych leczonych metotreksatem u sześciu (6/73) stwierdzono krwawienie do brzucha i niezwłocznie poddano operacji. Spośród nich tylko 34 były następnie monitorowane w poradni przyszpitalnej. Spośród 26 pacjentek starających się o ciążę, zdrowe dziecko urodziło 16 kobiet, co daje wysoki skumulowany odsetek wyleczeń - 61%, ze średnim czasem uzyskania ciąży na poziomie 15 miesięcy. Średnie stężenie beta-hCG w momencie rozpoczęcia leczenia było wysokie: 3570 mIU/ml ( $\pm 4553$ ) i w dniu wypisu (10dni) spadało o blisko 60%. Maksymalne stężenie beta-hCG na początku leczenia wynosiło nawet 22 088 mIU/ml (średnie maksymalne to 4809 mIU/ml). Skuteczność leczenia MTX raportowano na poziomie 93%, ale w przypadku 49% pacjentów konieczne było podanie 3 dawek, a w przypadku 22% podanie dwóch dawek.

Należy podkreślić, że cel badawczy tej pracy jest dobrze i precyzyjnie sformułowany, a wstęp dobrze przedstawia najważniejsze zagadnienia dotyczące zachowawczego leczenia ciąży pozamacicznej. Sekcja *Materiały i metody* dobrze charakteryzuje przebadane kobiety, a Autor przedstawia szczegółowe kryteria włączenia i wyłączenia z badania. Analiza statystyczna jest właściwa; co istotne zbadano rozkład normalny populacji testem Shapiro-Wilka. Ponadto, wskazany byłby komentarz, czy przeprowadzono analizę mocy statystycznej dotyczącej liczebności grupy, jak i stworzonych podgrup. Recenzent uważa jednak, że włączanie do leczenia ciężarnych z bardzo wysokimi stężeniami beta-hCG ( $> 5\ 000$  mIU/ml) nie jest optymalnym postępowaniem i nie jest zgodne z obecnymi rekomendacjami europejskimi i światowymi (ACOG, ESHRE, ASRM, RCOG). Wybór metod badawczych był odpowiedni, a zastosowane techniki świadczyły o doświadczeniu i

nowoczesnym zapleczu badawczym Kliniki Endokrynologii Ginekologicznej CMUJ. UM w Poznaniu. Wyniki przedstawione są w sposób klarowny i jednoznaczny. Nie zaobserwowano różnic w parametrach klinicznych i biochemicznych po podziale grupy leczonej metotreksatem na kobiety które zaszły i te które nie zaszły w ciążę, co być może wynika z małej liczebności grup (vide brak analizy mocy statystycznej). Ciekawa byłaby również informacja czy zaobserwowano różnice pomiędzy grupami w stosowaniu narkotyków, alkoholu i papierosów. Dyskusja jest dojrzała i pełna naukowych przypuszczeń, konfrontujących wyniki własne z dostępnymi danymi literaturowymi. W dyskusji Doktorant przedstawia wnikliwą analizę wyników własnych w świetle najnowszych publikacji zagranicznych, jak i nielicznych krajowych. Ten rozdział pracy świadczy o bardzo dużej wiedzy i dojrzałości naukowej dr Wyroby – cała praca jest zrozumiała, czytelna i niesie istotne przesłanie kliniczne – leczenie zachowawcze ciąży pozamacicznej jest skuteczne i w niewielkim stopniu wpływa na płodność kobiety.

## **2. Przegląd Lekarski 2017; 74: 204**

Praca ta jest prawdopodobnie kontynuacją publikacji z roku 2014, gdyż obejmuje 126 ciężarnych z ciążą ektopową (materiał pochodzi z okresu 2007-2013), z których 97 (77%) zakwalifikowano do leczenia zachowawczego. U 25 pacjentek zastosowano leczenie operacyjne, a w przypadku 4 ciężarnych przyjęto postawę wyczekującą. Co nieuniknione wstęp tej pracy zawiera istotne treści powtórzone z publikacji z GP z roku 2014. Recenzent ubolewa natomiast, że Autor ponownie przedstawia dane epidemiologiczne CDC z roku 1992, nie sięgając po nowsze badania dotyczące ciąż ektopowych z Polski i Europy. Również w publikacji nie znalazły się cytowania licznych rekomendacji towarzystw europejskich i światowych (np. *Fertility and Sterility* 2013; 100:638 oraz *BJOG* 2016; 123: 15). Część pracy *Materiały i metody* jest podobna do wcześniejszej publikacji. Recenzent przestrzegałby jednak przed rutynowym stosowaniem jako kryterium ultrasonograficzne rozpoznania ciąży ektopowej przy braku pęcherzyka ciążowego w jamie macicy już przy poziomie beta-hCG 1000 mIU/ml. Z rekomendacji oraz doświadczenia recenzenta wynika, że w zależności od sytuacji klinicznej oraz jakości stosowanego sprzętu USG poziom tego punkt odcięcia może być na poziomie 2000 mIU/ml lub w niektórych sytuacjach klinicznych nawet na poziomie jeszcze wyższym. Niestety opis uzyskanych wyników i opis metodologii statystycznej w tej pracy jest

mniej zroszumiały niż dane zawarte w publikacji z roku 2014. W przeciwieństwie do badania z 2014 roku nie przeprowadzono testu normalności rozkładu danych ciągłych. Jednorodność wariancji (test t a t. Manna–Whitneya) oraz sferyczność wariancji (ANOVA, MANOVA vs. T. Kruskal Wallis) nie jest kryterium rozstrzygającym dla wyboru metody analizy statystycznej. Nie opisano ponadto metod badania jednorodności i sferyczności wariancji. Doktorant przeprowadza również test  $\chi^2$ , gdy liczebność w komórkach jest poniżej 5. (*patrz również: różne oznaczenia tego samego testu*). Przedstawienie wartości  $\chi^2$ , t, U i Z nie poprawia czytelności wyników, lecz zamazuje czytelność tej sekcji pracy i pogarsza zrozumienie treści. Ponadto w tabeli IV podana jest chyba niewłaściwa/niespójna liczba pacjentek skutecznie leczonych MTX bez i z następowym leczeniem operacyjnym. Przedstawianie tabel z danymi nie różniącymi się statystycznie niczego nie wnosi do badania i powinno być podsumowane jednym zdaniem: „*dla badanych parametrów nie stwierdzono istotnych statystycznie różnic pomiędzy grupami*”. Niestety liczebności grup na poziomie 9-11 są tak małe, że zmienność losowa dominuje nad jakimkolwiek efektem interwencyjnym.

Uwagi recenzenta nie umniejszają jednak w niczym bardzo dużej wartości poznawczej przedstawionej rozprawy doktorskiej i stanowią jedynie próbę dążenia do utrzymania bardzo wysokich standardów prowadzonych badań, jak również zachętę do ich kontynuacji. W posumowaniu Doktorant zaobserwował na znaczącej liczebnie grupie, że systemowe leczenie zachowawcze metotreksatem jest skuteczną i bezpieczną terapią, szczególnie przy rutynowym podaniu drugiej dawki w 4. dobie. Niestety w przypadku 10% podanie MTX było nieskuteczne i wymagane było postępowanie operacyjne. Przedstawione w pracy rezultaty nie pozwalają na zidentyfikowanie punktu odcięcia stężenia beta-hCG powyżej którego leczenie jest nieskuteczne i nie pozwalają na formułowanie wniosków, że leczenie to jest równie bezpieczne i skuteczne przy bardzo wysokich stężeniach (vide 22 088 mIU/ml).

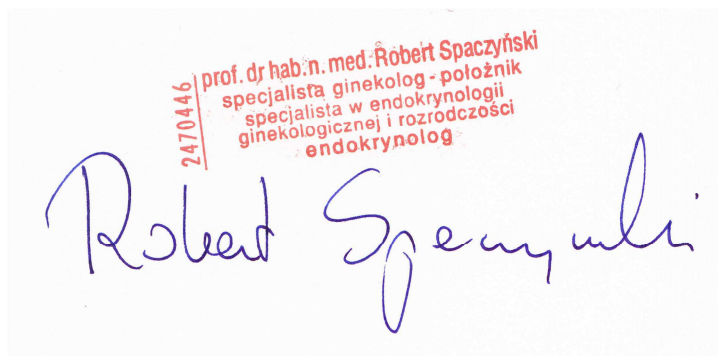
### **3. Folia Medica Cracoviensia 2016; 56: 41**

Praca jest interesującym badaniem eksperymentalnym porównującym ekspresję białek biorących udział we wczesnej implantacji (HSP-10, HSP-27, PSG-11) w surowicy krwi u kobiet w ciążyach ektopowych oraz ciążyach eutopowych wysokiego ryzyka. We wstępie Doktorant i współpracownicy w sposób staranny, przejrzysty i zroszumiały przedstawiają zagadnienia dotyczące wczesnego rozwoju ciąży,

implantacji oraz potencjalnej roli wczesnych markerów biochemicznych (białka ciążowe biorące udział w implantacji) w potwierdzaniu prawidłowej lokalizacji ciąży oraz ich potencjalnych mechanizmów działania. Praca została przeprowadzona na 42 kobietach ciężarnych podzielonych na dwie porównywalne grupy (n=22 ciążę ectopowe oraz n=22 ciążę wysokiego ryzyka). Ta stosunkowo mała liczebność grup bynajmniej nie umniejsza koncepcji i wartości pracy, lecz wskazuje na trudności z realizacją takiego projektu i dowodzi uporczywości Doktoranta i współpracowników, który był niezbędny do doprowadzenia badania do końca. Do oznaczenia stężeń badanych białek Autor wykorzystuje nowoczesne i dokładnie opisane techniki laboratoryjne - ELISA do oznaczenia stężenia HSP-10, HSP-27 oraz PSB-11. Wybór metod badawczych był odpowiedni, a zastosowane techniki świadczyły o nowoczesnym zapleczu badawczym ośrodka krakowskiego. Metody statystyczne dobrano właściwie, nie podano jednak danych na temat normalności rozkładu zmiennych. Lek. med. Jakub Wyroba przedstawił interesujące i ciekawe wyniki, które zaprezentował w czytelny i wzbogacony graficznie sposób. Stwierdził on, że w przypadku ciąż pozamacicznych ekspresja/produkcja białek HSP-10, HSP-27 oraz PSB-11 w surowicy krwi była znacząco niższa. Analiza regresji nie wykazała jednocześnie biologicznie istotnych zależności pomiędzy ekspresją wybranych białek a wiekiem, BMI i tygodniem ciąży badanych kobiet. Ponadto zależności pomiędzy badanymi białkami a ciążą w zależności od miejsca zagnieżdżenia były słabe i charakteryzowały się dużą wariancją. (opis w sekcji wyników mógłby być skrócony). Dyskusja pracy jest stosunkowo krótka, acz treściwa. Jednakże ze względu na niewielką liczbę publikacji dotyczących zagadnienia wczesnych białek implantacyjnych w ciążach pozamacicznych w literaturze światowej, nie jest możliwe szersze skonfrontowanie uzyskanych wyników przez Doktoranta.

W podsumowaniu recenzent pragnie potwierdzić, że lek. med. Jakub Wyroba przedstawił trzy ciekawe, oryginalne publikacje dotyczące zagadnienia skuteczności, bezpieczeństwa oraz wpływu na płodność zachowawczego leczenia ciąży ectopowej, demonstrując dominujący udział w opracowaniu koncepcji badań, ich wykonaniu, analizie statystycznej oraz interpretacji uzyskanych wyników. W przypadku publikacji eksperymentalnej dotyczącej wczesnych markerów implantacji dr Wyroba brał udział w przygotowaniu oraz weryfikowaniu manuskryptu publikacji.

Na podstawie sporządzonej oceny stwierdzam, że przedstawiona przez lek. med. Jakuba Wyrobę praca doktorska spełnia wszelkie wymogi stawiane rozprawom doktorskim i wnoszę do Wysokiej Rady Collegium Medicum Uniwersytetu Jagiellońskiego o kontynuowanie przewodu na stopień naukowy doktora nauk medycznych.



2470446 | prof. dr hab. n. med. Robert Spaczyński  
specjalista ginekolog - położnik  
specjalista w endokrynologii  
ginekologicznej i rozrodczości  
endokrynolog

Robert Spaczyński