

## Autoreferat do wniosku habilitacyjnego

### 1. Imię i nazwisko

Tomasz Banaś

### 2. Posiadane dyplomy i stopnie naukowe

2002 r. – uzyskanie tytułu lekarza, Wydział Lekarski Uniwersytetu Jagiellońskiego Collegium Medicum w Krakowie

2005 r. – uzyskanie tytułu magistra w dziedzinie zdrowie publiczne, Wydział Nauk o Zdrowiu Uniwersytetu Jagiellońskiego Collegium Medicum w Krakowie

2007 r. – uzyskanie stopnia doktora w dziedzinie nauk medycznych, dyscyplina: medycyna, na podstawie rozprawy: „*Wartość kliniczna oceny ekspresji białka DFF45 w endometriozie jajnika*”, Wydział Lekarski Uniwersytetu Jagiellońskiego Collegium Medicum w Krakowie

2010 r. - uzyskanie tytułu specjalisty w dziedzinie położnictwo i ginekologia

2014 r. – uzyskanie tytułu specjalisty w dziedzinie ginekologia onkologiczna

2017 r. – zakończenie szkolenia specjalizacyjnego w dziedzinie endokrynologia

### 3. Informacje o dotychczasowym zatrudnieniu w jednostkach naukowych

Po zakończeniu rocznego stażu podyplomowego, który odbyłem w Szpitalu Uniwersyteckim w Krakowie, w roku 2003 rozpocząłem studia doktoranckie w Katedrze Ginekologii i Położnictwa Uniwersytetu Jagiellońskiego Collegium Medicum w Krakowie, które zakończyłem w 2007 roku obroną pracy doktorskiej pt. „*Wartość kliniczna oceny ekspresji białka DFF45 w endometriozie jajnika*”. W trakcie studiów doktoranckich prowadziłem zajęcia dydaktyczne dla studentów Wydziału Lekarskiego oraz dla studentów Szkoły Medycznej dla Obcokrajowców (zajęcia w języku angielskim). Równocześnie realizowałem badania dotyczące infekcji urogenitalnych u kobiet jako stypendysta projektu „*Akademicka Innowacyjność dla Małopolski – program stypendialny dla najlepszych doktorantów UJ.*”, a także odbyłem czterotygodniowy staż naukowy w Sheffield Hallam University w ramach projektu stypendialnego Leonardo da Vinci. W marcu 2007 roku decyzją Ministra Edukacji na prowadzone przeze mnie badania przyznany został Grant Promotorki, który jednakże z powodu złożenia rozprawy doktorskiej nie mógł zostać wykorzystany.

W 2007 roku zostałem zatrudniony w Katedrze Ginekologii i Położnictwa Uniwersytetu Jagiellońskiego Collegium Medicum na stanowisku: asystent naukowo-dydaktyczny, a od 2010 roku do chwili obecnej pracuję w tejże Katedrze na stanowisku adiunkta. Od roku 2002 jestem zatrudniony w Szpitalu Uniwersyteckim w Krakowie: w okresie 2002-2003 jako lekarz stażysta, następnie jako młodszy asystent, a od 2010 roku jako starszy asystent w Oddziale Klinicznym Kliniki Ginekologii i Onkologii. W trakcie pracy naukowej i zawodowej odbyłem następujące szkolenia:

- a) Pelvic Floor Reconstruction and Female Incontinence Surgery – Advanced Workshop; 19-20 May 2016 Novy Jicin, Czech Republic,
- b) European Society of Surgical Oncology Course on Liver Surgery from basics to advanced care; 7-8 September 2015 Wiena, Austria,

- c) Laparoscopic Gynecological Surgery Course – Gynecological Cancer – State of the Art; 26-28 May 2014 University of Strasbourg, France,
- d) Lipzig School of Radical Pelvic Surgery; 4 – 7 March 2013 Universitätsklinikum Lipzig, Germany.
- e) Kurs ultrasonograficzny z położnictwa i ginekologii – Roztoczańska Szkoła Ultrasonografii 2009.
- f) Kursy z zakresu podstawowych i zaawansowanych analiz statystycznych – Kraków 2005-2007, StatSoft Polska, Kraków, Polska.

**4. Wykaz 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) tytuł osiągnięcia naukowego**

*Ocena ekspresji kompleksu DFF40/DFF45 (DNA Fragmentation Factor 40 i 45) oraz białka Bcl-2 (B-cell lymphoma 2) w złośliwych nowotworach nabłonkowych i nienabłonkowych trzonu macicy w korelacji z cechami patomorfologiczno-klinicznymi i w porównaniu do nienowotworowych rozrostów endometrium i miometrium oraz prawidłowej tkanki endometrium i miometrium.*

Osiągnięcie stanowi monotematyczny cykl 5 prac oryginalnych, które powstały po uzyskaniu stopnia doktora nauk medycznych. Sumaryczny Impact Factor cyklu wynosi 11.992 punktów, a punktacja MNiSW 130 punktów. Mój indywidualny wkład autorski w każdą z wymienionych prac znajduje się również w załączniku 4, a oświadczenia współautorów o ich indywidualnym wkładzie autorskim w załączniku nr 7.

**b) autorzy, tytuły publikacji, rok wydania, nazwa wydawnictwa**

- **Banas T**, Juszczak G, Pitynski K, Nieweglowska D, Ludwin A, Czerw A. Incidence and mortality rates in breast, corpus uteri, and ovarian cancers in Poland (1980–2013): an analysis of population-based data in relation socio-economic changes. *OncoTargets and Therapy* 2016, 9:4121-4127.  
**IF – 2,612 pkt. MNiSW – 25 pkt.** (praca oryginalna)  
*Mój wkład w postanie pracy polegał na: stworzeniu koncepcji i projektu badania, koordynacji badania, tworzeniu bazy danych, analizie statystycznej i interpretacji wyników, przeglądzie piśmiennictwa, zredagowaniu manuskryptu, przygotowaniu odpowiedzi na uwagi recenzentów pracy, przygotowaniu ostatecznej wersji manuskryptu do publikacji. Mój proporcjonalny wkład w realizację pracy szacuje na 70%.*
- **Banas T**, Pitynski K, Okon K, Mikos M, Czerw A, Deptala A, Ludwin A. Immunoexpression of DNA Fragmentation Factor 40, DNA Fragmentation Factor 45, and B-cell Lymphoma 2 Protein in normal human endometrium and uterine myometrium depend on menstrual cycle phase and menopausal status. *Arch Med Sci.* 2017; DOI: <https://doi.org/10.5114/aoms.2017.69383> [Epub ahead of print]  
**IF – 1,969 pkt. MNiSW – 25 pkt.** (praca oryginalna)  
*Mój wkład w postanie pracy polegał na: stworzeniu koncepcji i projektu badania, koordynacji badania, tworzeniu bazy danych, analizie statystycznej i interpretacji wyników, przeglądzie piśmiennictwa, zredagowaniu manuskryptu, uczestnictwie w przygotowaniu odpowiedzi na*

*uwagi recenzentów pracy, przygotowaniu ostatecznej wersji manuskryptu do publikacji. Mój proporcjonalny wkład w realizację pracy szacuje na 70%.*

- **Banas T**, Pitynski K, Mikos M, Cielecka-Kuszyk J. Endometrial polyps and benign human endometrial hyperplasia present increased prevalence of proapoptotic DFF40 / DFF45 complex and antiapoptotic Bcl-2 protein compared to normal human endometrium. *Int J Gyn Pathol.* 2017; doi: 10.1097/PGP.0000000000000442. [Epub ahead of print]  
**IF – 1,473 pkt. MNiSW – 25 pkt.** (praca oryginalna)  
*Mój wkład w postanie pracy polegał na: stworzeniu koncepcji i projektu badania, koordynacji badania, tworzeniu bazy danych, analizie statystycznej i interpretacji wyników, przeglądzie piśmiennictwa, zredagowaniu manuskryptu, przygotowaniu odpowiedzi na uwagi recenzentów pracy, przygotowaniu ostatecznej wersji manuskryptu do publikacji. Mój proporcjonalny wkład w realizację pracy szacuje na 75%.*
- **Banas T**, Pitynski K, Okon K, Czerw A. DNA fragmentation factors 40 and 45 (DFF40/DFF45) and B-cell lymphoma 2 (Bcl-2) protein are underexpressed in uterine leiomyosarcomas and may predict survival. *OncoTargets and Therapy* 2017; 10: 4579–4589.  
**IF – 2.612 pkt. MNiSW – 25 pkt.** (praca oryginalna)  
*Mój wkład w postanie pracy polegał na: stworzeniu koncepcji i projektu badania, koordynacji badania, tworzeniu bazy danych, analizie statystycznej i interpretacji wyników, przeglądzie piśmiennictwa, zredagowaniu manuskryptu, przygotowaniu odpowiedzi na uwagi recenzentów pracy, przygotowaniu ostatecznej wersji manuskryptu do publikacji. Mój proporcjonalny wkład w realizację pracy szacuje na 80%.*
- **Banas T**, Pitynski K, Okon K, Winiarska A. Non-endometrioid and high-grade endometrioid endometrial cancers show DNA fragmentation factor 40 (DFF40) and B-cell lymphoma 2 protein (BCL2) underexpression, which predicts disease-free and overall survival, but not DNA fragmentation factor 45 (DFF45) underexpression. *BMC Cancer* 2018; 18: 418.  
**IF – 3.288 pkt. MNiSW – 30 pkt.** (praca oryginalna)  
*Mój wkład w postanie pracy polegał na: stworzeniu koncepcji i projektu badania, koordynacji badania, tworzeniu bazy danych, analizie statystycznej i interpretacji wyników, wykonaniu przeglądu piśmiennictwa, zredagowaniu manuskryptu, przygotowaniu odpowiedzi na uwagi recenzentów pracy, przygotowanie ostatecznej wersji manuskryptu do publikacji. Mój proporcjonalny wkład w realizację pracy szacuje na 80%.*

### **c) omówienie cyklu naukowego wyżej wymienionych prac i osiągniętych wyników wraz z omówieniem ich ewentualnego wykorzystania**

#### **Wstęp**

Najczęstszym nowotworem złośliwym narządu rodowego w krajach rozwiniętych, w tym w Polsce, jest rak endometrium [1]. Stanowi on ponad 80% wszystkich nowotworów złośliwych trzonu macicy i dotyka przede wszystkim kobiet w wieku około- i pomenopauzalnym [1]. Raki endometrium o typie endometrioidalnym są nowotworami hormonozależnymi, których szczyt zapadalności przypada na 50. – 55. rok życia kobiet, w przeciwieństwie do nieendometrioidalnych raków endometrium, które są hormononiezależne ze szczytem zachorowań przypadającym na okres 65 - 70 lat [2].

U kobiet w wieku reprodukcyjnym narząd rodny podlega cyklicznym, zależnym od hormonów, zmianom funkcjonalnym, które zostają czasowo zatrzymane w przypadku ciąży oraz całkowicie ustają

po menopauzie [3]. Opisywane zmiany dotyczą przede wszystkim endometrium, w dużo mniejszym stopniu miometrium macicy. W prawidłowym endometrium, w trakcie fazy proliferacyjnej cyklu miesięczkowego obserwuje się zwiększony wzrost komórek nabłonka, w mniejszym stopniu komórek podścieliska, który trwa do wczesnej fazy sekrecyjnej cyklu miesięczkowego, następnie komórki endometrium ulegają apoptozie, której szczyt przypada na późną fazę sekrecyjną i menstruację [3,4]. W endometrium pomenopauzalnym natomiast, występuje bardzo niski obrót komórkowy oraz wyhamowany zostaje proces apoptozy [3].

Po raz pierwszy termin apoptoza został najprawdopodobniej użyty w 1972 roku przez Kerr'a i opisany jako: „*mało poznany mechanizm kontroli śmierci komórkowej, który wydaje się odgrywać uzupełniającą, lecz przeciwną rolę do mitozy w regulacji populacji komórek u zwierząt*” [5]. Po 46 latach wiemy, że jest to proces odgrywający kluczową rolę w utrzymaniu homeostazy tkankowej, który w przeciwieństwie do nekrozy, przebiega w sposób kaskadowy przy udziale proteaz serynowych – kaspaz biorących udział w przekazywaniu sygnału proapoptotycznego [6-7]. W przekazywaniu sygnału do apoptozy udział biorą: zewnętrzny szlak receptorowy, wewnętrzny szlak mitochondrialny oraz retikulum endoplazmatyczne [7]. DiPaola i wsp. wykazali, iż w prawidłowym endometrium indukcja apoptozy odbywa się zarówno szlakiem receptorowym, jak i mitochondrialnym [8]. Najlepiej poznany białkiem błonowym receptorowego szlaku apoptozy jest proteina Fas (CD95/Apo-1), należąca do rodziny czynnika martwicy nowotworów (TNF-R cytokines; Tumor Necrosis Factor Related cytokines), a ligand Fas (FasL; CD95L; Apo-1L) występuje jako białko błonowe lub w formie rozpuszczalnej (sFasL; soluble Fas ligand). Aktywacja Fas indukuje zmianę konformacji domen śmierci (FAD; Fas Associated Death Domain), co w prowadząc do aktywacji kaspazy-8, która oprócz rekrutacji kolejnych enzymów w kaskadzie kaspaz, posiada możliwość aktywacji białka bid, przez co może indukować uwolnienie cytochromu c i Endonukleazy G (EndoG), rozpoczynając tym samym mitochondrialny szlak apoptozy [9-11]. Szlak mitochondrialny regulowany jest poprzez proteiny z rodziny bcl-2, do której należą białka o działaniu proapoptotycznym jak bax, bak i bid oraz białka chroniące komórkę przed apoptozą: bcl-2 i bcl-xL, a ich stosunek determinuje wrażliwość komórki na indukcję apoptozy [11-13]. Należy zaznaczyć, iż receptorowy i mitochondrialny szlak apoptozy nie funkcjonują obok siebie jako alternatywne drogi przekazywania sygnału proapoptotycznego, przeciwnie, aktywacja jednego ze szlaków prowadzi do aktywacji drugiego, a wzajemne przełączenia sygnału proapoptotycznego istnieją na różnych piętrach kaskady apoptozy. W efekcie współdziałania różnych szlaków apoptozy (cross-talk) następuje aktywacja proteaz serynowych – kaspaz, syntetyzowanych w postaci nieaktywnych zymogenów [14]. Aktywacja kaspaz odbywa się w sposób szeregowy, przy czym może dotyczyć nie tylko następnego w kolejności enzymu (downstream activation), lecz również poprzedniego białka (upstream activation) [14]. Ze względu na różną funkcję wyróżniono kaspazy (1) indukujące takie jak: kaspaza-8 zwana także kaspazą początkową lub szczytową, oraz kaspaza-2, (2) wzmacniające: kaspaza-9; -10; -11 oraz (3) wykonawcze: -3 i -7 [15].

Końcowym etapem apoptozy jest degradacja kwasu deoksyrybonukleinowego (DNA) dokonywana bezpośrednio przez białko DFF40 (DNA Fragmentation Factor 40). DFF40, określane również jako DNAza aktywowana kaspazami (Caspase Activated DNase; CAD) jest zlokalizowane w jądrze komórkowym i w nieaktywnej formie związane z białkiem DFF45 (DNA Fragmentation Factor 45) w stosunku stechiometrycznym 1:1 [16]. Liu i wsp., Enari i wsp. oraz Widlak i wsp. wykazali, iż DFF45 pełni podwójną funkcję: nie tylko hamuje aktywność DFF40, lecz również zapewnia powstanie odpowiedniej, trzeciorzędowej struktury DFF40 [16-18]. Obecność białka DFF45 jest niezbędna do uzyskania przez DFF40 prawidłowej struktury przestrzennej - DFF40 i DFF45 są dla siebie wzajemnymi chaperonami [17,18]. W wyniku aktywacji kaspazy-3 następuje przecięcie w trzech miejscach łańcucha białka DFF45 i uwolnienie aktywnej formy DFF40, które jako oligomer i łącząc się z histonem H1 indukuje rozpad chromatyny i fragmentację DNA na odcinki zawierające około 200 par nukleotydów (laddering) [19]. W wyniku alternatywnej obróbki potranslacyjnej syntetyzowane jest również białko

DFF o masie cząsteczkowej 35kDa (DFF35) (ICAD-S; Inhibitor of Caspase Activated DNase - Short) [20,21]. Pomimo że białko DFF35 ma zdolność wiązania DFF40 jednakże aktywna forma DFF40 może zostać zsyntetyzowana tylko w obecności komplementarnego DFF45, a funkcja białka DFF35 w komórce nie została jednoznacznie określona - hipotetycznie może ono służyć jako dodatkowy inhibitor dla DFF40 [21].

Białko Bcl-2 jest jednym z najlepiej poznanych inhibitorów apoptozy, stabilizującym błony mitochondrialne poprzez dezaktywację czynnika bax [22]. Bcl-2 hamuje uwalnianie cytochromu c i zapobiega aktywacji kaskady kaspaz poprzez kaspazę-9 [23]. Obniżoną ekspresję Bcl-2 obserwowano w prawidłowym endometrium sekrecyjnym oraz endometriozie jajnikowej w porównaniu do endometrium proliferacyjnego [24]. Zaburzoną ekspresję Bcl-2 stwierdzono również w łagodnych i złośliwych patologich trzonu macicy.

W przeciwieństwie do Bcl-2 ekspresja DFF40 i DFF45 w narządzie rodzimym nie była analizowana tak intensywnie. Brustmann jako pierwszy wykazał zwiększoną ekspresję DFF45 w surowiczym raku jajnika [24]. W swoich kolejnych badaniach wykazał wzrost poziomu DFF45 w hiperplazji endometrium w porównaniu do endometrium prawidłowego oraz zmniejszenie ekspresji DFF45 w raku endometrium [25]. Ekspresja DFF40 nie była dotąd przedmiotem analizy w narządzie rodzimym i w tym aspekcie prezentowane wyniki badań są oryginalne.

**Celem projektu** badawczego była kompleksowa analiza ekspresji DFF40, DFF45 oraz Bcl-2 w złośliwych nowotworach nabłonkowych i nienabłonkowych trzonu macicy w korelacji z cechami patomorfologiczno-klinicznymi i w porównaniu do nienowotworowych rozrostów endometrium i miometrium oraz prawidłowej tkanki endometrium i miometrium. Raki endometrium są bowiem najczęstszymi nowotworami złośliwym narządu rodzimego w krajach rozwiniętych [26].

**Pierwsze badanie** miało na celu ocenę stopnia, w jakim nowotwory złośliwe trzonu macicy stanowią problem epidemiologiczny oraz społeczny i dotyczyło analizy trendów zapadalności i umieralności na nowotwory złośliwe trzonu macicy, piersi i jajnika w populacji polskich kobiet w okresie 1980 – 2013. W oparciu o dane Krajowego Rejestru Nowotworów wykonano analizę trendów zapadalności oraz przeżywalności na nowotwory złośliwe narządów płciowych żeńskich (z wyłączeniem nowotworów złośliwych szyjki macicy, jajowodu oraz pochwy i sromu, które były już analizowane uprzednio) w populacji polskiej. Krajowy Rejestr Nowotworów archiwizuje dane dotyczące zapadalności oraz umieralności z powodu nowotworów złośliwych w Polsce na podstawie obowiązkowej sprawozdawczości podmiotów prowadzących działalność medyczną. W analizie danych epidemiologicznych wykorzystano liczby bezwzględne zapadalności i umieralności na poszczególne nowotwory złośliwe oraz roczne, standaryzowane dla populacji światowej współczynniki zapadalności (Z-ASR) i umieralności (U-ASR), natomiast do oceny trendów zapadalności i umieralności wykorzystano średnioroczną zmianę procentową (annual average percentage change, AAPC). Dodatkową analizę trendów przeprowadzono w pięcioletnich grupach wiekowych.

W całym analizowanym okresie obserwowano istotny wzrost zapadalności na nowotwory złośliwe trzonu macicy, który był wyższy w latach 1980-1994 w porównaniu do okresu 1994-2014. W okresie 1980-2006 obserwowano istotne obniżenie trendu umieralności z powodu nowotworów złośliwych trzonu macicy, jednakże od roku 2006 niespodziewanie nastąpił wzrost tego trendu, spowodowany przede wszystkim wzrostem umieralności kobiet powyżej 74. roku życia. W latach 1980-2013 Z-ASR nowotworów złośliwych trzonu macicy wyniósł 6.6-13.7 a U-ASR 2.2-2.8.

Dodatkowo w analizowanym okresie Z-ASR na raka piersi wzrósł z 22.3 do 51.9, a U-ASR wzrósł z 18.9 do 29.3. Stwierdzono statystycznie istotny wzrost trendu zapadalności na raka piersi w całym okresie badawczym. Po nieznacznym wzroście trendu umieralności na raka piersi w okresie 1980-1994 stwierdzono statystycznie istotne obniżenie umieralności w okresie 1994-2013. Zarówno wzrost

trendu zapadalności jak i późny spadek trendu umieralności na raka piersi obserwowano w większości grup wiekowych.

W przypadku raka jajnika Z-ASR wyniósł w badanym okresie 7.9-15.2, natomiast U-ASR 6.0-9.9. Po istotnym wzroście trendu zapadalności na raka jajnika w okresie 1980-1994 zaobserwowano niewielkie, ale statystycznie istotne, obniżenie trendu w okresie 1994-2013. Równocześnie po początkowym istotnym wzroście trendu umieralności z powodu raka jajnika w okresie 1980-1989 oraz po okresie jego stabilizacji w latach 1989-2009, zaobserwowano statystycznie istotne obniżenie umieralności w okresie 2009-2013.

Otrzymane dane przedyskutowano w kontekście czynników socjo-ekonomicznych oraz demograficznych z lat 1960-2013 oceniając, że zmiany w trendach zapadalności na nowotwory złośliwe trzonu macicy są typowe jak dla populacji rozwiniętych i zależą w dużej mierze od modyfikowalnych czynników ryzyka związanych ze stylem życia kobiet. Obniżenie umieralności z powodu analizowanych nowotworów wynika najprawdopodobniej ze zwiększenia dostępności do opieki medycznej oraz stałego rozwoju metod diagnostycznych i terapeutycznych. W tym kontekście wnikliwej analizy wymaga zwiększenie umieralności na nowotwory złośliwe trzonu macicy w okresie 2006-2013 celem odpowiedzi na pytanie, czy jest to trend stabilny, czy jedynie krótkoterminowe wahania trendu.

W **drugiej pracy** analizowano ekspresję białek DFF40, DFF45 oraz Bcl-2 w prawidłowej tkance endometrium oraz miometrium macicy. Retrospektywnie zidentyfikowano preparaty parafinowe prawidłowego endometrium proliferacyjnego, sekrecyjnego, a także pomenopauzalnego oraz prawidłowego miometrium macicy pobranego w fazie proliferacyjnej i sekrecyjnej cyklu miesięczkowego i po menopauzie. Fazę cyklu miesięczkowego, w której pobrane zostało miometrium macicy, ustalono w oparciu o histopatologiczną ocenę endometrium z tego samego preparatu, które jednak nie zostało włączone do badania z uwagi na fakt, iż zgodnie z zastosowaną metodologią, od każdego pacjenta pobierano tylko jeden typ tkanki do badań. Do oceny ekspresji badanych białek użyto metody immunohistochemicznej. Wybór immunohistochemii jako metody badawczej pozwolił na określenie dokładnej lokalizacji badanych białek zarówno w tkance jak i w komórkach, co pozwoliło oddzielnie analizować ekspresję DFF40, DFF45 oraz Bcl-2 w warstwie gruczołowej endometrium oraz w podścielisku. W znacznej większości wcześniejszych badań nad ekspresją białek DFF45 oraz Bcl-2 w prawidłowym i nieprawidłowym endometrium badacze wykorzystywali metodę immunohistochemiczną, tak więc jest to sprawdzone narzędzie badawcze, o wielokrotnie potwierdzonej przydatności w analizie ekspresji DFF45 i Bcl-2. Wykorzystanie immunohistochemii pozwoliło nie tylko uzyskać rzetelne wyniki, również wyniki te mogły być porównane z rezultatami dotychczas wykonanych badań. Rozważano zastosowanie cyfrowej metody analizy obrazów immunohistochemicznych, jednakże odstąpiono od takiego rozwiązania z następujących powodów: (1) w piśmiennictwie naukowym nie znaleziono informacji metodologicznych dotyczących zastosowania cyfrowej analizy obrazów w ocenie immunohistochemicznej DFF45, ani Bcl-2 w ludzkim endometrium i/lub miometrium, co uniemożliwiało porównanie i walidację uzyskanych wyników, (2) ocena ekspresji badanych białek osobno w warstwie gruczołowej i podścielisku endometrium wymagała identyfikacji tych struktur przez doświadczonego histopatologa, szczególnie w patologicznych zmianach endometrium, (3) we wcześniej wykonanych badaniach wyniki oceny immunoekspresji białka DFF45 w prawidłowym endometrium korelowały z wynikami osiągniętymi z użyciem metody Western-blot. Dodatkowo mikroskopowa ocena immunoekspresji białek (w tym DFF45 i Bcl-2) przez doświadczonego histopatologa jest uznaną metodą badawczą, której wartość naukowa została potwierdzona wielokrotnie. Należy jednak podkreślić, że jest to metoda subiektywna i na wynik takiej oceny wpływ mogą mieć dodatkowe, często niezidentyfikowane czynniki. Celem ograniczenia wpływu potencjalnych (w tym niezidentyfikowanych) czynników zakłócających ocenę immunoekspresji badanych białek analiza dokonywana była niezależnie przez dwóch specjalistów w dziedzinie patomorfologii, przy czym

nie znali oni wzajemnie wyników uzyskanych przez drugiego oceniającego (badanie było pod tym względem zaślepienie). W przypadku uzyskania różnych wyników z tego samego preparatu, co wystąpiło w 0.46%-2.1% przypadków, ustalany był konsensus wyniku, a gdy było to niemożliwe (3 przypadki) próbkę wykluczano z analizy. W wyniku tak przyjętej metodologii nie było konieczności oceny zgodności wyników między obserwatorami (interrater agreement) gdyż wyniosła ona 100%. Analizie poddano natomiast zgodność i powtarzalność wyników oceny immunoekspresji białek DFF40, DFF45 oraz Bcl-2 przez osoby oceniające (intrarater agreement). W tym celu każda z oceniających osób, po upływie przynajmniej dwóch tygodni od oceny pierwotnej, została poproszona o ponowną ocenę 20% losowo wybranych preparatów (randomizacja elektroniczna: [www.randomizer.org](http://www.randomizer.org)), przy czym wynik pierwszej oceny był zaślepiony. Jako metodę analizy uzyskanych wyników zastosowano współczynnik klasyfikacji wewnątrzklasowej (intra-class correlation coefficient; ICC) oraz test kappa ( $\kappa$ ), uzyskując wysokie i statystycznie istotne wartości ICC oraz współczynnika  $\kappa$  w przedziale 0.891-1.000 co potwierdza wysoką powtarzalność zastosowanej metody. Ocenę immunoekspresji badanych białek dokonywano w 5 polach widzenia (powiększenie x400) oceniając intensywność wybarwienia (0, brak wybarwienia; 1, słabe wybarwienie; 2, średnie wybarwienie; 3, silne wybarwienie), oraz liczbę wybarwionych komórek (0, ekspresja widoczna w mniej niż 10% komórek; 1+, ekspresja w 10%–50% komórek; 2+, ekspresja w 51%–80% komórek, i 3+, ekspresja w powyżej 80% komórek). Iloczyn intensywności i ekspresji stanowił ostateczny wynik punktowy, który przyjmował wartości od 0 do 9 (z wyłączeniem wartości 5 i 7).

Na podstawie przeprowadzonych badań stwierdzono jądrową lokalizację DFF40 i DFF45 oraz cytoplazmatyczny odczyn dla Bcl-2. Wyniki zaprezentowano jako medianę, zakres i rozstęp międzykwartyłowy (IQR), iloczynu intensywności wybarwienia i liczby wybarwionych komórek. Do analizy użyto nieparametrycznych testów statystycznych (testu *U* Mann`a-Whitney`a, dla zmiennych zależnych testu Wilcoxon`a) oraz testu chi kwadrat, a także jednoczynnikowej analizy wariancji Kruskal`a-Wallis`a. Celem oceny wzajemnego związku pomiędzy ekspresją badanych białek wykorzystano analizę korelacji Spearman`a, obliczając współczynnik korelacji (R). Poziom istotności statystycznej (p) dla wszystkich obliczeń przyjęto na poziomie <0.050.

Najwyższą **ekspresję DFF40** stwierdzono w warstwie gruczołowej endometrium w porównaniu do podścieliska oraz miometrium macicy zarówno w fazie proliferacyjnej jak i sekrecyjnej cyklu miesięczkowego, natomiast ekspresja DFF40 w miometrium macicy była istotnie niższa w porównaniu do podścieliska endometrium zarówno w fazie proliferacyjnej jak i sekrecyjnej. Po menopauzie miometrium macicy charakteryzowało się istotnie niższą ekspresją DFF40 w porównaniu do warstwy gruczołowej oraz podścieliska endometrium, natomiast nie stwierdzono istotnych różnic w ekspresji DFF40 między warstwą gruczołową a podścieliskiem w endometrium pomenopauzalnym. Ekspresja DFF40 w warstwie gruczołowej endometrium pomenopauzalnego była natomiast istotnie niższa w porównaniu do warstwy gruczołowej endometrium proliferacyjnego oraz sekrecyjnego. Nie stwierdzono różnic w ekspresji DFF40 w podścielisku endometrium ani w miometrium macicy w zależności od fazy cyklu menstruacyjnego oraz statusu menopauzalnego.

W przypadku **białka DFF45** najwyższe wartości jego poziomu stwierdzono w warstwie gruczołowej endometrium w porównaniu do podścieliska oraz miometrium macicy zarówno w fazie proliferacyjnej jak i sekrecyjnej cyklu miesięczkowego, jak również po menopauzie. Wyłącznie w warstwie gruczołowej endometrium immunoekspresja białka DFF45 pozostawała zależna od fazy cyklu miesięczkowego i statusu menopauzalnego osiągając istotnie wyższe wartości w fazie sekrecyjnej w porównaniu do fazy proliferacyjnej cyklu miesięczkowego oraz w porównaniu do endometrium pomenopauzalnego. Również w endometrium proliferacyjnym, w porównaniu do endometrium pomenopauzalnego poziom ekspresji DFF45 w warstwie gruczołowej był istotnie wyższy. Podobnie jak w przypadku immunoekspresji DFF40 nie stwierdzono zależności od fazy cyklu ani statusu

menopauzalnego różnic w poziomie ekspresji białka DFF45 w podścielisku endometrium oraz miometrium macicy.

Ostatnim analizowanym białkiem było **Bcl-2**: istotne różnice w poziomie ekspresji Bcl-2 pomiędzy warstwą gruczołową endometrium a podścieliskiem oraz miometrium macicy wykazano wyłącznie w fazie proliferacyjnej cyklu miesięczkowego. Równocześnie ekspresja Bcl-2 w warstwie gruczołowej endometrium proliferacyjnego była istotnie wyższa w porównaniu do warstwy gruczołowej endometrium sekrecyjnego oraz pomenopauzalnego.

W oparciu o wieloczynnikową analizę wariancji nie wykazano, aby wiek, długość cyklu miesięczkowego i miesiączki, indeks masy ciała, liczba ciąż, ani liczba porodów istotnie wpływały na ekspresję badanych białek w prawidłowym endometrium i miometrium macicy.

Potwierdzono wysoką zgodność oraz powtarzalność oceny immunoekspresji badanych białek, które wynosiły odpowiednio:

- powtarzalność ocen pierwszego histopatologa wniosła dla DFF40:  $\kappa=1.0$  ( $p < 0.001$ ); dla DFF45  $\kappa=0.95$  ( $p < 0.001$ ) oraz dla Bcl-2:  $\kappa=0.96$  ( $p < 0.001$ ).
- powtarzalność ocen drugiego patologa wniosła dla DFF40:  $\kappa=1.0$  ( $p < 0.001$ ); dla DFF45:  $\kappa=1.0$  ( $p < 0.001$ ) oraz dla Bcl-2:  $\kappa=0.96$  ( $p < 0.001$ ).
- z wagi na przyjętą metodologię badania zgodność oceny immunoekspresji badanych białek między patologami była całkowita.

W oparciu o uzyskane wyniki wykazano, że warstwa gruczołowa endometrium charakteryzuje się najwyższą ekspresją badanych białek, w porównaniu do podścieliska endometrium oraz miometrium macicy oraz, iż ta ekspresja w przypadku DFF45 oraz Bcl-2 jest zależna od fazy cyklu menstruacyjnego i stanu menopauzalnego, natomiast w przypadku DFF40 od wystąpienia menopauzy. Podścielisko endometrium oraz miometrium macicy charakteryzowały się niższą ekspresją badanych białek, która była stała i niezależna od cyklu miesięczkowego oraz statusu menopauzalnego. Przedstawione wyniki jako pierwsze całościowo opisują zmiany w ekspresji DFF40, DFF45 i Bcl-2 w ludzkim endometrium i miometrium w warunkach fizjologicznych i są spójne z rezultatami wcześniejszych badań [25]. Jest to o tyle istotne, że umożliwia odniesienie się do wyników badań innych autorów, którzy analizowali ekspresję DFF45 i Bcl-2 w stanach patologii endometrium i miometrium macicy, a tym samym poszerza interpretację wyników uzyskanych przez innych badaczy. Dodatkowo po raz pierwszy analizowano ekspresję DFF40 w fizjologicznym ludzkim endometrium i miometrium i pod tym względem przeprowadzone badanie jest oryginalne i przedstawia nowe, wcześniej niepublikowane wyniki. Należy podkreślić, że wybór i walidacja metody badawczej oraz całościowa analiza immunoekspresji DFF40, DFF45 i Bcl-2 w ludzkim endometrium w warunkach fizjologicznych były kluczowe do zaprojektowania i wykonania kolejnych etapów projektu badawczego oraz prawidłowej interpretacji uzyskanych wyników.

Celem **trzeciej pracy** była analiza ekspresji białek DFF40, DFF45 oraz Bcl-2 w niezłośliwych rozrostach endometrium tzn. w polipach endometrialnych oraz w hiperplazji endometrium bez atypii. Pierwotną analizą retrospektywną objęto 312 przypadków. Na podstawie historii choroby z badania wyłączone: (1) pacjentki z chorobą nowotworową, (2) aktualne palaczki tytoniu, (3) kobiety z zespołem policystycznych jajników, (4) oraz stosujące leczenie hormonalne w okresie ostatnich pięciu lat przed pobraniem tkanek. Ostatecznie do analizy włączono 73 pacjentki z rozpoznanymi polipami endometrium oraz 62 kobiety z rozrostem endometrium bez atypii – grupę kontrolną stanowiły próbki prawidłowego endometrium ludzkiego w fazie proliferacyjnej ( $n=52$ ) i sekrecyjnej ( $n=54$ ) cyklu miesięczkowego oraz pobrane po menopauzie ( $n=54$ ). Przypadki polipów endometrialnych podzielono w zależności od fazy cyklu menstruacyjnego oraz statusu menopauzalnego, w których pobrano tkanki wyróżniając 34 polipy endometrialne w fazie proliferacyjnej i 8 polipów w fazie sekrecyjnej cyklu miesięczkowego oraz 31 polipów endometrialnych pobranych po menopauzie. Wyróżniono również



30 przed- i 32 pomenopauzalne przypadki rozrostów endometrium bez atypii. W grupie pacjentek przed menopauzą, z uwagi na nieregularne krwawienia miesięczne oraz brak prawidłowego endometrium, nie było możliwości podziału przypadków hiperplazji endometrium bez atypii w zależności od fazy cyklu miesięcznego. Również z uwagi na małą liczbę polipów endometrialnych w fazie sekrecyjnej (większość pacjentek była kwalifikowana do zabiegu operacyjnego w pierwszej fazie cyklu miesięcznego), zostały one wyłączone z dalszej analizy. Równocześnie na podstawie badania mikroskopowego zidentyfikowano próbki tkankowe w których doszło do całkowitego lub częściowego złuszczenia warstwy gruczołowej endometrium (sloughing phenomenon), co jest uznawane jako jeden z morfologicznych wykładników procesów apoptotycznych. Jako metodę badawczą zastosowano opisaną w pracy nr 1 immunohistochemiczną ocenę ekspresji DFF40, DFF45 oraz Bcl-2 w badanych tkankach. Podobnie jak w poprzedniej pracy wyniki zaprezentowano jako medianę i zakres iloczynu intensywności wybarwienia i liczby wybarwionych komórek oraz podano rozstęp międzykwartyłowy (IQR). Do analizy statystycznej użyto nieparametrycznych testów statystycznych (testu *U* Mann`a-Whitney`a a dla zmiennych zależnych testu Wilcoxon`a) oraz testu chi kwadrat, a także jednoczynnikowej analizy wariancji Kruskal`a-Wallis`a. Również do oceny związku pomiędzy ekspresją badanych białek wykorzystano analizę korelacji Spearman`a, obliczając współczynnik korelacji (R). Poziom istotności statystycznej (p) dla wszystkich obliczeń przyjęto na poziomie <0.050.

**W polipach endometrialnych** potwierdzono jądrowy odczyn dla białek DFF40 i DFF45. Nie stwierdzono istotnych różnic **w ekspresji DFF40** w warstwie gruczołowej i podścielisku polipów endometrialnych pobranych od kobiet zarówno przed jak i po menopauzie. Jednakże ekspresja DFF40 w warstwie gruczołowej polipów endometrialnych była istotnie wyższa w porównaniu do podścieliska zarówno przed jak i po menopauzie. Podobnie nie stwierdzono istotnych różnic **w ekspresji DFF45** pomiędzy polipami endometrialnymi pobranych przed i po menopauzie zarówno w warstwie gruczołowej oraz w podścielisku. Natomiast stwierdzono istotnie wyższą ekspresję DFF45 w warstwie gruczołowej w porównaniu do podścieliska zarówno w przed- jak i w pomenopauzalnych polipach endometrium.

Nie stwierdzono różnic w ekspresji DFF40 pomiędzy polipami endometrium z objawami złuszczenia oraz bez tego objawu zarówno w warstwie gruczołowej jak i w podścielisku. Dodatkowo w polipach endometrialnych zarówno pobranych przed jak i po menopauzie obserwowano wysoką, dodatnią i istotną korelację pomiędzy ekspresją białek DFF40 oraz DFF45 zarówno w warstwie gruczołowej jak również w podścielisku. W polipach endometrialnych nie stwierdzono zależnych od menopauzy różnic w ekspresji DFF40 oraz DFF45, w związku z powyższym w kolejnej analizie porównano ekspresję DFF40 i DFF45 w całej grupie polipów endometrialnych i w prawidłowym endometrium.

W warstwie gruczołowej polipów endometrialnych ekspresja DFF40 była istotnie wyższa w porównaniu do gruczołowej ekspresji DFF40 w endometrium proliferacyjnym, sekrecyjnym oraz pomenopauzalnym. Również ekspresja DFF40 w podścielisku polipów endometrialnych była istotnie wyższa w porównaniu do ekspresji w podścielisku prawidłowego endometrium proliferacyjnego, sekrecyjnego oraz pomenopauzalnego. Podobnie jak DFF40, białko DFF45 wykazywało istotnie wyższą ekspresję w podścielisku polipów endometrialnych w porównaniu do ekspresji w podścielisku prawidłowego endometrium proliferacyjnego, sekrecyjnego i pomenopauzalnego. W warstwie gruczołowej polipów endometrialnych stwierdzono istotnie wyższą ekspresję DFF45 w porównaniu do warstwy gruczołowej prawidłowego endometrium proliferacyjnego oraz pomenopauzalnego. W tym badaniu potwierdzono również, wykazane w pierwszej pracy, zależne od fazy cyklu menstruacyjnego oraz statusu menopauzalnego różnice w ekspresji DFF40 oraz DFF45 w warstwie gruczołowej prawidłowego, ludzkiego endometrium i ich brak w podścielisku.

Ekspresja **Bcl-2** w polipach endometrialnych wykazywała lokalizację cytoplazmatyczną i była istotnie wyższa w warstwie gruczołowej w porównaniu do podścieliska zarówno przed menopauzą jak

i po menopauzie. Nie stwierdzono natomiast istotnych różnic w ekspresji Bcl-2, ani w warstwie gruczołowej, jak również w podścielisku polipów endometrialnych pobranych od pacjentek przed i po menopauzie. W polipach endometrialnych z cechami złuszczenia ekspresja Bcl-2 była istotnie niższa w porównaniu do polipów endometrialnych niewykazujących cech eksfoliacji jednakże tylko w warstwie gruczołowej [ ], natomiast w podścielisku nie zaobserwowano istotnych różnic. Nie stwierdzono korelacji między ekspresją Bcl-2 a DFF40, ani też między ekspresją Bcl-2 a DFF45 zarówno w warstwie gruczołowej jak i podścielisku polipów endometrialnych.

Analizując ekspresję **DFF40** oraz **DFF45** w **hiperplazji endometrium bez atypii** stwierdzono jej jądrowy charakter, jak również nie wykazano istotnych różnic pomiędzy próbkami tkankowych pobranymi od pacjentek przed i po menopauzie w zakresie ekspresji DFF40 w warstwie gruczołowej oraz w podścielisku, jak również w dla ekspresji DFF45 w nabłonku gruczołowym ani w podścielisku. Równocześnie stwierdzono istotnie wyższą ekspresję zarówno DFF40 jak i DFF45 w warstwie gruczołowej w porównaniu do podścieliska w próbkach endometrium z hiperplazją bez atypii pobranych przed menopauzą oraz po menopauzie. Nabłonek gruczołowy hyperplastycznego endometrium bez atypii z cechami złuszczenia charakteryzował się istotnie wyższą ekspresją DFF45 w porównaniu do próbek hyperplastycznego endometrium bez cech eksfoliacji, przy czym w podścielisku nie zaobserwowano takich różnic. Nie stwierdzono natomiast istotnych różnic w ekspresji DFF40 w próbkach hyperplastycznego endometrium bez atypii z cechami złuszczenia w porównaniu do hyperplastycznego endometrium bez atypii i bez cech eksfoliacji zarówno w warstwie gruczołowej nabłonka, ani w podścielisku. W endometrium hyperplastycznym bez atypii u pacjentek przed menopauzą potwierdzono dodatnią i istotną korelację pomiędzy ekspresją DFF40 i DFF45 zarówno w nabłonku gruczołowym jak również w podścielisku. Również w pomenopauzalnych próbkach hyperplastycznego endometrium bez atypii stwierdzono dodatnią i istotną korelację ekspresji DFF40 i DFF45 zarówno w nabłonku gruczołowym oraz w podścielisku.

Podobnie jak w polipach endometrialnych, w **hiperplazji endometrium bez atypii** obserwowano **cytoplazmatyczną ekspresję Bcl-2**. Nie wykazano istotnych różnic w ekspresji Bcl-2 pomiędzy próbkami hyperplastycznego endometrium bez atypii pobranego przed i po menopauzie zarówno w nabłonku gruczołowym, jak i w podścielisku. W warstwie gruczołowej hyperplastycznego endometrium bez atypii stwierdzono natomiast statystycznie wyższą ekspresję Bcl-2 w porównaniu do podścieliska zarówno w próbkach pobranych przed jak i po menopauzie. Nie stwierdzono różnic w ekspresji Bcl-2 porównując próbki hyperplastycznego endometrium bez atypii i z cechami eksfoliacji w porównaniu do hiperplazji endometrium bez atypii i bez cech złuszczenia zarówno w nabłonku gruczołowym ani w podścielisku.

Z uwagi na fakt, iż nie stwierdzono aby menopauza wpływała na ekspresję badanych białek w polipach endometrialnych, ani w endometrium hyperplastycznym bez atypii, w kolejnym etapie badania oceniano ekspresję DFF40, DFF45 i Bcl-2 w porównaniu do prawidłowego endometrium kontrolnego. W nabłonku gruczołowym polipów endometrialnymi stwierdzono istotnie wyższą ekspresję DFF40 i Bcl-2 w porównaniu do nabłonka gruczołowego prawidłowego endometrium proliferacyjnego, prawidłowego endometrium sekrecyjnego oraz prawidłowego endometrium pomenopauzalnego. W nabłonku gruczołowym polipów endometrialnych wykazano również istotnie wyższą ekspresję DFF45, w porównaniu do prawidłowego endometrium proliferacyjnego oraz prawidłowego endometrium pomenopauzalnego. W nabłonku gruczołowym hyperplastycznego endometrium bez atypii stwierdzono istotnie wyższą ekspresję DFF40 i Bcl-2, w porównaniu do nabłonka gruczołowego prawidłowego endometrium proliferacyjnego, prawidłowego endometrium sekrecyjnego oraz prawidłowego endometrium pomenopauzalnego. W nabłonku gruczołowym endometrium z hiperplazją bez atypii wykazano natomiast istotnie wyższą ekspresję DFF45 w porównaniu do prawidłowego endometrium proliferacyjnego oraz prawidłowego endometrium pomenopauzalnego.

Zarówno w podścielisku polipów endometrialnych jak również w podścielisku hyperplastycznego endometrium bez atypii obserwowano istotnie wyższą ekspresję DFF40 oraz DFF45 w porównaniu do podścieliska prawidłowego endometrium proliferacyjnego oraz podścieliska prawidłowego endometrium sekrecyjnego.

W podścielisku polipów endometrialnych stwierdzono ponadto istotnie wyższą ekspresję białka Bcl-2 w porównaniu do podścieliska prawidłowego endometrium proliferacyjnego, prawidłowego endometrium sekrecyjnego oraz pomenopauzalnego. W przeciwieństwie do powyższego podścielisko endometrium hyperplastycznego bez atypii wykazywało istotnie zmniejszoną ekspresję Bcl-2 w porównaniu do prawidłowego endometrium proliferacyjnego, prawidłowego endometrium sekrecyjnego oraz prawidłowego endometrium pomenopauzalnego, jak również w porównaniu do podścieliska polipów endometrialnych.

W uzupełniającej analizie potwierdzono zależność ekspresji DFF40, DFF45 i Bcl-2 w warstwie gruczołowej kontrolnego endometrium od fazy cyklu menstruacyjnego i statusu menopauzalnego, przy braku takich zależności dla ekspresji DFF40, DFF45 i Bcl-2 w podścielisku. Stwierdzono również istnienie istotnej, dodatniej korelacji pomiędzy ekspresją DFF40 i DFF45 w prawidłowym endometrium kontrolnym, zarówno w warstwie gruczołowej, jak i w podścielisku, przy braku związku pomiędzy ekspresją DFF40 i Bcl-2 oraz DFF40 i Bcl-2. Uzyskane rezultaty niezależnie potwierdziły wyniki opublikowane w pierwszej pracy.

Podobnie jak w badaniu poprzednim potwierdzono wysoką zgodność oraz powtarzalność oceny immunoekspresji badanych białek w polipach endometrialnych oraz w endometrium z hiperplazją bez atypii, które wynosiły odpowiednio:

- powtarzalność ocen pierwszego histopatologa wniosła dla gruczołowej ekspresji DFF40: 99.10% (przedział ufności: 97.00%–98.90) oraz dla DFF40 w podścielisku: 99.80% (przedział ufności: 99.70%–99.9)); dla gruczołowej ekspresji DFF45: 99.70% (przedział ufności: 99.50%–99.80%) oraz dla DFF45 w podścielisku: 99.70% (przedział ufności: 99.50%–99.80%); dla gruczołowej ekspresji Bcl-2: 100.00% (przedział ufności: brak) oraz dla Bcl-2 w podścielisku: 99.80% (przedział ufności: 99.70%–99.90%)
- powtarzalność ocen drugiego patologa wyniosła dla gruczołowej ekspresji DFF40: 99.2% (przedział ufności: 98.6%-99.5%), dla ekspresji DFF40 w podścielisku 99.6% (przedział ufności: 99.2%-99.7%); dla gruczołowej ekspresji DFF45 99.2% (przedział ufności: 98.60%-99.5%); dla ekspresji DFF45 w podścielisku 100.00% (przedział ufności nieosiągalny); dla gruczołowej ekspresji Bcl-2 99.20% (przedział ufności: 99.20%-99.7%); dla ekspresji Bcl-2 w podścielisku 99.80% (przedział ufności: 99.70%-99.90%).

W wyniku przyjętej metodologii badania uzyskano całkowitą zgodność oceny ekspresji badanych białek między histopatologami.

**W czwartym**, retrospektywnym badaniu kliniczno-kontrolnym analizowano immunoekspresję białek DFF40, DFF45 oraz Bcl-2 w mięsach gładkokomórkowych macicy (n=53) oraz w mięśniakach gładkokomórkowych macicy (n=53) w kontekście cech kliniczno-patologicznych, czasu wolnego od wznowy, czasu przeżycia chorych oraz w porównaniu do ekspresji w:

- prawidłowym miometrium pobranym z preparatu macicy z mięsakiem gładkokomórkowym (n=53),
- prawidłowym miometrium pobranym z macicy mięśniakowej (N=53) oraz
- prawidłowym miometrium kobiet zdrowych (n=53), które stanowiło kontrolę.

Jako metodę badawczą zastosowano opisaną w dwóch powyższych pracach immunohistochemiczną ocenę ekspresji DFF40, DFF45 oraz Bcl-2 analizując intensywność wybarwienia oraz liczbę wybarwionych komórek. Iloczyn liczby komórek i intensywności ich wybarwienia stanowił

ostateczny wynik punktowy. Na podstawie liczby uzyskanych punktów immunoekspresję badanych białek kwalifikowano i prezentowano następująco:

- 0 punktów – brak ekspresji
- 1-2 punkty – ekspresja niska
- 3-4 punkty – ekspresja średnia
- 6-9 punktów – ekspresja wysoka

Do analizy statystycznej użyto testów nieparametrycznych (jednoczynnikowej analizy wariancji Kruskal'a-Wallis'a, a dla zmiennych zależnych testu Wilcoxon'a) oraz testu chi kwadrat. Do analizy czasu wolnego od wznowy oraz przeżycia całkowitego wykorzystano test Cox'a-Mantel'a, natomiast do identyfikacji czynników wpływających istotnie na czas wolny od wznowy oraz czas przeżycia zastosowano model proporcjonalnego hazardu Cox'a. W celu oceny związku pomiędzy ekspresją badanych białek i cechami kliniczno-patologicznymi mięsaków i mięśniaków gładkokomórkowych macicy wykorzystano analizę korelacji Spearman'a, obliczając współczynnik korelacji (R). Poziom istotności statystycznej (p) dla wszystkich obliczeń przyjęto na poziomie <0.050.

Potwierdzono jądrową ekspresję DFF40 i DFF45 oraz cytoplazmatyczną lokalizację Bcl-2 we wszystkich rodzajach badanych tkanek. Mięsaki gładkokomórkowe macicy wykazywały brak lub niską ekspresję analizowanych białek [odpowiednio: DFF40: 43.40% i 43.40%; DFF45: 58.49% i 41.51%; Bcl-2: 47.17% i 47.17%]. Średnią ekspresję DFF40 stwierdzono w 13.30%, DFF45 w 0.00%, a Bcl-2 w 5.66% próbek tkankowych mięsaków gładkokomórkowych macicy, w żadnej natomiast nie stwierdzono wysokiej ekspresji badanych białek. Mięsaki gładkokomórkowe macicy wykazywały istotnie niższą ekspresję DFF40 oraz DFF45 w porównaniu do miometrium pobranego z preparatu macicy z mięsakiem, jak również w porównaniu do prawidłowego miometrium kontrolnego. Również ekspresja Bcl-2 w mięsakach gładkokomórkowych macicy była istotnie niższa niż w miometrium z preparatu macicy z mięsakiem oraz w prawidłowym miometrium kontrolnym. W mięsakach gładkokomórkowych macicy nie stwierdzono związku pomiędzy ekspresją DFF40 i DFF45, jak również brak związku pomiędzy ekspresją Bcl-2 i DFF40 oraz Bcl-2 i DFF45. Wykazano natomiast istotną, ujemną korelację pomiędzy ekspresją Bcl-2 i stopniem zaawansowania choroby nowotworowej oraz między ekspresją Bcl-2, a indeksem mitotycznym. Ponadto z indeksem mitotycznym istotnie ujemnie korelowała ekspresja DFF40, natomiast ekspresja zarówno DFF40 jak i DFF45 korelowała ujemnie ze stopniem zaawansowania klinicznego mięsaków gładkokomórkowych macicy, a związek był statystycznie istotny. W dalszej analizie wykazano, iż pacjentki z guzem, w którym nie stwierdzono ekspresji DFF40 lub Bcl-2 charakteryzowały się istotnie krótszym czasem wolnym od wznowy oraz krótszym czasem całkowitego przeżycie w porównaniu do pacjentek z guzami DFF40-dodatnimi i Bcl-2-dodatnimi. Nie wykazano natomiast różnic w czasie wolnym od wznowy ani w czasie całkowitego przeżycia pomiędzy pacjentkami z mięsakiem gładkokomórkowym macicy niewykazującymi ekspresji DFF45 w porównaniu do pacjentek z guzami DFF45-pozytywnym. Dodatkowo stwierdzono istotnie dłuższy czas wolny od wznowy oraz czas całkowitego przeżycia pacjentek z 1. i 2. stopniem zaawansowania choroby w porównaniu do stopnia 3+, jak również u kobiet z nowotworami wysoko i średniozróżnicowanymi w porównaniu do mięsaków niskozróżnicowanych, a także w przypadku indeksu mitotycznego guza  $\leq 50$  w porównaniu z wartością  $>50$ . W badanej populacji kobiet z mięsakiem gładkokomórkowym macicy zidentyfikowano również istotne czynniki ryzyka wystąpienia wznowy procesu nowotworowego do których należały: kliniczny stopień zaawansowania choroby 3+, guz niskozróżnicowany, indeks mitotyczny guza  $>50$ , brak ekspresji DFF40 oraz brak ekspresji Bcl-2 w guzie. Zidentyfikowano następujące czynniki ryzyka krótkiego czasu przeżycia pacjentek z mięsakiem gładkokomórkowym trzonu macicy, są to: kliniczny stopień zaawansowania choroby 3+, guz niskozróżnicowany, indeks mitotyczny guza  $>50$ , brak ekspresji DFF40 oraz brak ekspresji Bcl-2 w guzie.

W dalszej analizie wykazano nasiloną ekspresję badanych białek w mięśniakach gładkokomórkowych trzonu macicy. Wysoką ekspresję DFF40 rozpoznano w 35.85%, średnią w

33.96%, a niską w 30.19% próbek tkankowych, przy czym nie stwierdzono mięśniaków DFF40-ujemnych. W przypadku DFF45 w największej liczbie mięśniaków (77.36%) stwierdzono jego niską ekspresję, średnią w 16.98%, wysoką w 3.77%, a brak ekspresji w 1.89% przypadków. Najwięcej mięśniaków wykazywało również wysoką ekspresję Bcl-2 (39.62%), średnią ekspresję stwierdzono w 32.08%, a niską w 38.30% przypadków, nie stwierdzono przypadków braku ekspresji Bcl-2. Zarówno ekspresja DFF40 jak i Bcl-2 były istotnie wyższe w mięśniakach gładkokomórkowych macicy w porównaniu do miometrium pobranego z preparatu macicy mięśniakowatej jak również w porównaniu do prawidłowego miometrium kontrolnego macicy. Natomiast nie stwierdzono istotnych różnic w ekspresji DFF45 w mięśniakach gładkokomórkowych macicy w porównaniu do miometrium pobranego z preparatów macicy mięśniakowatej jak również w porównaniu do prawidłowego miometrium kontrolnego. Ponadto w preparatach mięśniaków gładkokomórkowych macicy stwierdzono istotną, dodatnią korelację pomiędzy ekspresją DFF40 i DFF45 oraz pomiędzy DFF40 i Bcl-2 przy braku korelacji pomiędzy DFF45 i Bcl-2. Ponadto ekspresja Bcl-2 korelowała dodatnio ze średnicą guza.

W końcowej analizie nie stwierdzono istotnych różnic w ekspresji badanych białek pomiędzy miometrium pobranym z preparatów macic z mięśniakiem gładkokomórkowym, miometrium pobranym z preparatów macic mięśniakowatych oraz prawidłowym miometrium kontrolnym. Ponadto w prawidłowym miometrium kontrolnym potwierdzono istotny pozytywny związek pomiędzy ekspresją DFF40 i DFF45

Podobnie jak w przypadku poprzednich artykułów, również w tym badaniu potwierdzono wysoką zgodność oraz powtarzalność oceny immunoekspresji badanych białek, które wynosiły odpowiednio:

- powtarzalność ocen pierwszego histopatologa wniosła dla DFF40: 97.60% (przedział ufności: 95.90%–98.60%); dla DFF45: 93.40% (przedział ufności: 90.00%–96.10%) oraz dla Bcl-2: 95.20% (przedział ufności: 91.90%–97.20%).

- powtarzalność ocen drugiego patologa wniosła dla DFF40: 93.40% (przedział ufności: 88.90%–96.10%); dla DFF45: 89.80% (przedział ufności: 83.10%–92.90%) oraz dla Bcl-2: 98.40% (przedział ufności: 97.20%–99.00%).

Z uwagi na zastosowaną metodologię zgodność oceny immunoekspresji badanych białek między patomorfologiem pierwszym i drugim była stuprocentowa.

**W piątej pracy** oceniano ekspresję DFF40, DFF45 oraz Bcl-2 w rakach endometrium w odniesieniu do charakterystyki patomorfologicznej nowotworów oraz danych klinicznych pacjentek. Do retrospektywnej analizy zakwalifikowano łącznie 342 próbki tkankowe nabłonkowych nowotworów złośliwych endometrium, w tym: 90 przypadków wysokozróżnicowanego raka endometrioidalnego endometrium i 125 przypadków raka endometrioidalnego endometrium o średnim stopniu zróżnicowania, stanowiących łącznie grupę A i odpowiadającą typowi 1 raka endometrium według Bokhman`a, a także 31 przypadków mięsaka raka, 22 przypadki surowiczego raka endometrium, 25 przypadków jasnokomórkowego raka endometrium oraz 49 przypadków niskozróżnicowanego raka endometrioidalnego endometrium, które według klasyfikacji Bokhman`a stanowią typ 2. raka endometrium i łącznie stanowią grupę B [27].

Jako metodę badawczą również zastosowano immunohistochemiczną ocenę ekspresji DFF40, DFF45 oraz Bcl-2 w badanych tkankach. Oceny immunoekspresji badanych białek dokonywano w 5 polach widzenia (powiększenie x400), wyliczając iloczyn intensywności wybarwienia oraz liczby wybarwionych komórek klasyfikując odczyn na podstawie liczby uzyskanych punktów jako silny (6-9 punktów), słaby (2-4 punkty) lub brak odczynu (0-1 punktów). Do analizy statystycznej wyników użyto testu *U* Mann`a-Whitney`a, a dla zmiennych zależnych testu Wilcoxon`a oraz testu chi kwadrat, a także jednoczynnikowej analizy wariancji Kruskal`a-Wallis`a. Do analizy czasu wolnego od wznowy oraz przeżycia całkowitego wykorzystano test Cox`a-Mantel`a, natomiast do identyfikacji czynników wpływających istotnie na czas wolny od wznowy oraz czas przeżycia zastosowano model

proporcjonalnego hazardu Cox'a. Obliczono ryzyko względne (RR) wznowy, zajęcia węzłów chłonnych oraz obecności nacieków w przestrzeniach naczyniowo-limfatycznych. Do oceny związku pomiędzy ekspresją badanych białek wykorzystano analizę korelacji Spearman'a, obliczając współczynnik korelacji (R). Wyniki zmiennych o rozkładzie normalnym prezentowano jako średnie  $\pm$  odchylenie standardowe (SD), zmienne nominalne jak liczbę przypadków (n) oraz procent (%). Poziom istotności statystycznej (p) dla wszystkich obliczeń przyjęto na poziomie  $<0.050$  jak we wszystkich poprzednich pracach.

Pacjentki z grupy A były młodsze oraz miały wyższy wskaźnik masy ciała w porównaniu do kobiet z grupy B. Pacjentki z grupy B charakteryzowały się natomiast wyższym zaawansowaniem nowotworu, niższym zróżnicowaniem, wyższą liczbą przypadków z indeksem mitotycznym  $\geq 50$ , częstszym zajęciem węzłów chłonnych oraz przestrzeni naczyniowo-limfatycznych. Ponadto u pacjentek z grupy B częściej stosowano leczenie adjuwantowe, pomimo tego częściej obserwowano wznowę procesu nowotworowego w porównaniu do kobiet w grupie A.

W grupie A silną, jądrową ekspresję DFF40 i DFF45 stwierdzono w odpowiednio: w 27.44% i 0.45%, słabą w 39.54% i 9.30%, a brak ekspresji w 33.02% oraz w 90.23% przypadków. Silną, cytoplazmatyczną ekspresję Bcl-2 w grupie A obserwowano w 33.95%, słabą w 33.49% a brak w 32.56% przypadków. Nie stwierdzono istotnych różnic w grupie A pomiędzy wysokozróżnicowanym a średniozróżnicowanym rakiem endometrioidalnym endometrium w aspekcie ekspresji DFF40, DFF45 ani też Bcl-2.

W grupie B silną jądrową ekspresję DFF40 i DFF45 obserwowano w odpowiednio: w 9.45% i 3.236%, słabą w 20.47% i 14.17%, a brak ekspresji w 70.08% oraz 83.47% przypadków. Podobnie jak w grupie A, również w grupie B, nie stwierdzono istotnych różnic pomiędzy niskozróżnicowanym rakiem endometrioidalnym endometrium, rakiem surowiczym, rakiem jasnokomórkowym oraz mięsakorakiem w zakresie ekspresji DFF40, DFF45 ani też Bcl-2. Wykazano natomiast istotnie niższą ekspresję DFF40 oraz Bcl-2 w grupie B w porównaniu do grupy A oraz brak różnic w ekspresji DFF45.

Zarówno w grupie A, jak i w grupie B brak ekspresji DFF40 istotnie zwiększał ryzyko względne wznowy procesu nowotworowego, natomiast tylko w grupie B w rakach DFF40-ujemnych stwierdzono zwiększone ryzyko przerzutów do węzłów chłonnych oraz ryzyko zajęcia przestrzeni naczyniowo-limfatycznych. Brak ekspresji Bcl-2 w grupie A zwiększał ryzyko przerzutów do węzłów chłonnych, zajęcia przestrzeni naczyniowo limfatycznych oraz ryzyko wysokiego indeksu mitotycznego ( $\geq 50$ ), nie wpływając istotnie na ryzyko wznowy procesu nowotworowego, natomiast w grupie B istotnie zwiększał ryzyko wznowy, ryzyko przerzutów do węzłów chłonnych oraz zajęcia przestrzeni naczyniowo-limfatycznych, nie wpływając na ryzyko wysokiego indeksu mitotycznego. Brak ekspresji DFF45 nie wiązał się natomiast ze zwiększonym ryzykiem wznowy, przerzutów do węzłów chłonnych, nacieku przestrzeni naczyniowo-limfatycznych, ani wysokim indeksem mitotycznym ( $>50$ ) w żadnej z dwóch grup, ani też w całej kohorcie pacjentek. W całej kohorcie pacjentek brak ekspresji DFF40 oraz Bcl-2 wiązał się ze zwiększonym ryzykiem wznowy procesu nowotworowego, obecności przerzutów w węzłach chłonnych, zajęcia przestrzeni naczyniowo-limfatycznych, jak również z wysokim indeksem mitotycznym ( $>50$ ).

Analizując krzywe przeżycia pacjentek wykazano, iż brak ekspresji DFF40 był istotnym czynnikiem wpływającym na krótszy czas przeżycia całkowitego zarówno w grupie pacjentek z wysoko- i średniozróżnicowanym rakiem endometrioidalnym endometrium, jak i w całej kohorcie, natomiast nie wykazywał związku z całkowitym czasem przeżycia pacjentek w grupie B. W całej kohorcie wykazano istotnie krótszy czas wolny od wznowy w przypadku raków DFF40-negatywnych, natomiast w osobnej analizie grup A i B nie wykazano, by brak ekspresji DFF40 w nowotworze wpływał na czas wolny od wznowy. Brak ekspresji DFF45 nie wpływał zarówno na czas przeżycia całkowitego, jak i czas wolny od wznowy w całej kohorcie, ani w grupie A pacjentek, natomiast pacjentki z grupy B z DFF45-ujemnym nowotworem charakteryzowały się krótszym czasem wolnym od wznowy, bez wpływu jednak na czas

całkowitego przeżycia. Pacjentki z nowotworami Bcl-2 negatywnymi wykazywały krótszy czas przeżycia całkowitego oraz krótszy czas wolny od wznowy zarówno w całej kohorcie jak i osobno w grupach A i B.

W jednoczynnikowej analizie przyczyn wpływających na czas przeżycia pacjentek oraz czas wolny od wznowy wykonanej dla całej kohorty wykazano, iż brak ekspresji DFF40 i Bcl-2 stanowił negatywny czynnik predykcyjny czasu przeżycia całkowitego, jak również czasu wolnego od wznowy. W modelu analizy wieloczynnikowej wykazano iż: wysokie zaawansowanie kliniczne nowotworu, niskie zróżnicowanie raka, obecność przerzutów w węzłach chłonnych, oraz brak ekspresji Bcl-2 stanowiły niezależne i istotne czynniki predykcyjne krótszego czasu przeżycia pacjentek z rakiem endometrium. Dodatkowo wykazano, iż zaawansowanie kliniczne w stopniu 3+, zajęcie węzłów chłonnych oraz brak ekspresji Bcl-2, były niezależnymi i istotnymi czynnikami predykcji krótszego czasu wolnego od wznowy.

Wykazano wysoką zgodność i powtarzalność oceny immunoekspresji badanych białek, która wynosiła odpowiednio:

- dla pierwszego oceniającego histopatologa: 0.903 (CI: 0.875–0.968) dla DFF40, 0.887 (CI: 0.823–0.986) dla DFF45 oraz 0.919 (CI: 0.8.893–0.983) dla Bcl-2.
- Dla drugiego oceniającego histopatologa: 0.934 (CI: 0.889–0.961) dla DFF40, 0.898 (CI: 0.831–0.929) dla DFF45 oraz 0.984 (CI: 0.972–0.990) dla Bcl-2.

Z uwagi na przyjętą metodologię oceny immunoekspresji uzyskano całkowitą zgodność wyników między oceniającymi histopatologami.

### **Wnioski i praktyczne znaczenie cyklu publikacji**

Wyniki uzyskane z powyższego cyklu publikacji potwierdziły, iż zapadalność na nowotwory złośliwe trzonu macicy w Polsce wykazuje istotny trend wzrostowy i stanowią one najczęstszy nowotwór złośliwy narządu rodowego. W oparciu o uzyskane wyniki ustalono, iż w okresie 1980-2006 nastąpiło istotne obniżenie trendu umieralności z powodu nowotworów złośliwych trzonu macicy, jednakże od roku 2006 niespodziewanie nastąpił wzrost trendu umieralności, spowodowany przede wszystkim wzrostem umieralności kobiet powyżej 74. roku życia. Te wyniki implikują konieczność podjęcia kolejnych badań prospektywnych i identyfikacji czynników ryzyka zwiększonej umieralności kobiet z nowotworem złośliwym trzonu macicy, tak aby w nieodległej przyszłości możliwe było zahamowanie i odwrócenie niekorzystnego trendu umieralności.

W badaniach immunohistochemicznych potwierdzono, iż w prawidłowym endometrium ekspresja białek DFF40, DFF45 oraz Bcl-2 jest zależna od fazy cyklu miesięczkowego i zmniejsza się po menopauzie, jak również wykazano, że w prawidłowym miometrium macicy ekspresja badanych białek jest stała i niezależna od powyższych czynników. Taka kompleksowa analiza ekspresji DFF40, DFF45 oraz Bcl-2 w prawidłowych tkankach macicy nie była dotąd wykonana, a jest niezbędna dla prawidłowej interpretacji zmian ekspresji badanych białek w łagodnych i złośliwych chorobach trzonu macicy.

Najważniejszym wynikiem przeprowadzonych badań jest wykazanie, że zarówno nabłonkowe, jak i nienabłonkowe nowotwory złośliwe trzonu macicy wykazują istotne zmniejszenie ekspresji przede wszystkim DFF40 oraz Bcl-2. W analizie klinicznej wykazano, że brak ekspresji DFF40 oraz Bcl-2 zwiększa ryzyko przerzutów do węzłów chłonnych oraz ryzyko wznowy procesu nowotworowego zarówno w rakach endometrium jak i mięsakach gładkokomórkowych trzonu macicy. Co więcej pacjentki z DFF40- oraz Bcl-2-negatywnymi rakami i mięsakami trzonu macicy, miały istotnie krótszy całkowity czas przeżycia, jak również krótszy czas wolny od wznowy. Obserwacja ta, po potwierdzeniu w badaniach prospektywnych, może posłużyć identyfikacji pacjentek z rakiem endometrium lub gładkokomórkowym mięsakiem macicy, które mają większe ryzyko wznowy i krótszy prognozowany czas przeżycia celem rozważenia bardziej agresywnego leczenia adjuwantowego, pozwalającego zwiększyć szanse na całkowite wyleczenie.

W celu uzyskania kompleksowych wniosków z przeprowadzonych badań, ekspresję białek DFF40, DFF45 oraz Bcl-2 analizowano również w niezłośliwych chorobach trzonu macicy jak: przerost endometrium bez atypii, polipy endometrium oraz mięśniaki macicy. W każdej z wymienionych tkanek wykazano istotne zwiększenie ekspresji badanych białek w porównaniu do tkanek prawidłowego endometrium i miometrium. Wykazano również istotną, pozytywną korelację ekspresji DFF40 i DFF45 w prawidłowej tkance endometrium i miometrium macicy oraz w hiperplazji endometrium, polipach endometrium oraz mięśniakach macicy. Natomiast w nowotworach złośliwych trzonu macicy stwierdzono brak związku pomiędzy ekspresją DFF40 i DFF45. Powyższe obserwacje wskazują na odmienny mechanizm ucieczki przed apoptozą w zmianach łagodnych i złośliwych trzonu macicy.

1. Sankaranarayanan R, Ferlay J. Worldwide burden of gynaecological cancer: the size of the problem. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol.* 2006; 20: 207–225.
2. American Cancer Society. *Cancer Facts and Figures 2007.* Atlanta: ACS; 2007. Harada T, Kaponis A, Iwabe T, et al. Apoptosis in human endometrium and endometriosis. *Hum Reprod Update.* 2004; 10: 29-38.
3. Vaskivuo TE, Stenback E, Karhumaa P. Apoptosis and apoptosis-related proteins in human endometrium. *Mol Cell Endocrinol.* 2000; 165: 75–83.
4. Kerr JFR, Wyllie AH, Currie AR. Apoptosis: A basic biological phenomenon with wide-ranging implications in tissue kinetics. *Br J Cancer.* 1972; 26: 239-257.
5. Nagata S. Apoptosis by death factor. *Cell.* 1997; 88: 355-356.
6. Earnshaw WC, Martins LM, Kaufmann SH. Mammalian caspases: structure, activation, substrates, and functions during apoptosis. *Annu Rev Biochem.* 1999; 68: 383-424.
7. Di Paola M, Loverro G, Caringella AM, et al. Receptorial and mitochondrial apoptotic pathways in normal and neoplastic human endometrium. *Int Gyneol Cancer.* 2005; 15: 523–528.
8. Philchenkov A. Caspases: potential targets for regulating cell death. *J Cell Mol Med.* 2004 ;8: 432-444.
9. Gross A, Jockel J, Wei MC, Korsmeyer SJ. Enforced dimerization of BAX results in its translocation, mitochondrial dysfunction and apoptosis. *EMBO J.* 1998; 17: 3878-3885.
10. Green DR. Apoptotic pathways: paper wraps stone blunts scissors. *Cell.* 2000; 102: 1-4.
11. Kroemer G, Reed JC. Mitochondrial control of cell death. *Nat Med.* 2000; 6: 513-519.
12. Huang DC, Strasser A. BH3-Only proteins-essential initiators of apoptotic cell death. *Cell.* 2000; 103: 839-842.
13. Cohen GM. Caspases: the executioners of apoptosis. *Biochem J.* 1997; 326: 1-16.
14. Philchenkov A. Caspases: potential targets for regulating cell death. *J Cell Mol Med.* 2004; 8: 432-444.
15. Widlak P, Lanuszewska J, Cary RB, Garrard WT. Subunit structures and stoichiometries of human DNA fragmentation factor proteins before and after induction of apoptosis. *J Biol Chem.* 2003; 278: 26915-26922.
16. Liu X, Li P, Widlak P, Zou H, Luo X, Garrard WT, Wang X. The 40-kDa subunit of DNA fragmentation factor induces DNA fragmentation and chromatin condensation during apoptosis. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1998; 95: 8461-8466.
17. Enari M, Sakahira H, Yokoyama H, Okawa K, Iwamatsu A, Nagata S. A caspase-activated DNase that degrades DNA during apoptosis, and its inhibitor ICAD. *Nature.* 1998; 391: 43-50.
18. Toh SY, Wang X, Li P. Identification of the nuclear factor HMG2 as an activator for DFF nuclease activity. *Biochem Biophys Res Commun.* 1998; 250: 598-601.
19. Samejima K, Earnshaw WC. Differential localization of ICAD-L and ICAD-S in cells due to removal of a C-terminal NLS from ICAD-L by alternative splicing. *Exp Cell Res.* 2000; 255: 314-320.
20. Chen D, Stetler RA, Cao G, Pei W, O'Horo C, Yin XM, Chen J. Characterization of the rat DNA fragmentation factor 35/Inhibitor of caspase-activated DNase (Short form). The endogenous inhibitor of caspase-dependent DNA fragmentation in neuronal apoptosis. *J Biol Chem.* 2000; 275: 38508-38517.
21. Minn AJ, Valez P, Schendel SL, et al. Bcl-x(L) forms an ionchannel in synthetic lipid membranes. *Nature.* 1997; 385: 353–357.
22. Newmeyer DD, Bossy-Wetzel E, Kluck RM, et al. Bcl-x(L) does not inhibit the function of Apaf-1. *Cell Death Diff.* 2000; 7: 402–407.
23. Korkmaz D, Bastu E, Dural O, et al. Apoptosis through regulation of Bcl-2, Bax and Mcl-1 expressions in endometriotic cyst lesions and the endometrium of women with moderate to severe endometriosis. *J Obstet Gynaecol.* 2013; 33: 725–728.
24. Brustmann H. DNA fragmentation factor (DFF45): expression and prognostic value in serous ovarian cancer. *Pathol Res Pract.* 2006; 202: 713-720.
25. Brustmann H. Poly(ADP-ribose) polymerase (PARP) and DNA-fragmentation factor (DFF45): expression and correlation in normal, hyperplastic and neoplastic endometrial tissues. *Pathol Res Pract.* 2007; 203: 65-72.



26. Wojciechowska Urszula, Didkowska Joanna. Zachorowania i zgony na nowotwory złośliwe w Polsce. Krajowy Rejestr Nowotworów, Centrum Onkologii – Instytut im. Marii Skłodowskiej – Curie..
27. Bokhman JV. Two pathogenetic types of endometrial carcinoma. Gynecol Oncol. 1983; 15: 10-17.

## 5. Omówienie pozostałych osiągnięć naukowo-badawczych

### a) dane bibliometryczne

Jestem autorem i współautorem 3 rozdziałów w podręcznikach polskich oraz 56 artykułów naukowych opublikowanych w indeksowanych czasopismach krajowych i zagranicznych (w tym 5 prac wchodzących w skład cyklu publikacji stanowiącego osiągnięcie naukowe), przy czym 41 to prace oryginalne, 8 opisy przypadków, 1 praca przeglądowa oraz 3 listy do redakcji a także 3 publikacje pełno tekstowe w suplementach czasopism. Mój sumaryczny Impact Factor (IF) wynosi 60,567 punktów wg. Listy Journal Citation Report, a liczba punktów KBN/MNiSW wynosi 796; Dodatkowo publikacje listów do redakcji oraz artykułów pełnotekstowych w suplementach czasopism uzyskały 9,377 punktów IF co daje łączny **IF: 69.994 punkty**.

Dodatkowo jestem autorem i współautorem 27 doniesień na krajowych i zagranicznych kongresach i zjazdach naukowych.

Liczba cytowań wg bazy Web of Science Core Collection –“Basic Search” 1945-2018 z dn. 30.04.2018r. wynosi 251, a Index Hirsha 10. Załącznik nr 4 przedstawia kompletną listę moich publikacji, a załączniki nr 5-1 i 5-2 analizę bibliometryczną sporządzoną przez Bibliotekę Medyczną Uniwersytetu Jagiellońskiego Collegium Medicum.

### b) główne obszary badań naukowych

Mój dorobek naukowy można podzielić na jedenaście tematycznych projektów badawczych.

#### (1) Analiza ekspresji białek DFF45, RCAS1 oraz Metallothioneiny w niezłośliwych patologich narządu rodneego.

W ramach projektu badawczego prowadzonego w Katedrze Ginekologii i Położnictwa Uniwersytetu Jagiellońskiego Collegium Medicum oceniono wartość kliniczną i znaczenie ekspresji białek DFF45, RCAS1 oraz Metallothioneiny w etiopatogenezie chorób narządu rodneego. Na podstawie przeprowadzonych badań immunohistochemicznych oraz Western-blot, wykazano istotnie niższą ekspresję białka DFF45 w endometriozie jajnikowej w porównaniu do prawidłowego endometrium (uwzględniając fazę cyklu menstruacyjnego oraz menopauzę) oraz zdrowej tkanki jajnikowej. Dodatkowo udowodniono brak zależnych od cyklu zmian ekspresji DFF45 w endometriozie jajnikowej, które są obecne w zdrowej tkance endometrium. Oceniono, iż zmniejszona ekspresja DFF45 w endometriozie jajnikowej wraz z brakiem zmian ekspresji DFF45 zależnych od cyklu menstruacyjnego mogą stanowić jeden z mechanizmów odpowiedzialnych za brak apoptozy komórek endometrium w ektopowej lokalizacji.

W dalszych etapach projektu analizowano ekspresję białka RCAS1 w endometrium prawidłowym, endometriozie oraz w powikłaniach ciąży. Białko RCAS1 (receptor binding cancer antigen expressed on SiSo cells), uczestniczy w regulacji aktywności komórek immunologicznych, w tym limfocytów, jest również czynnikiem umożliwiającym komórkom nowotworowym ucieczkę spod nadzoru układu immunologicznego, jak również indukuje apoptozę limfocytów cytotoksycznych, co prowadzi do zahamowania ich różnicowania i aktywności. RCAS1 jest uważane za jeden z czynników indukujących remodeling macierzy tkanki łącznej. Na podstawie prowadzonych badań wykazano, iż zmiany w ekspresji DFF45 oraz RCAS1 we wczesnej fazie sekrecyjnej w prawidłowym endometrium stanowią

najprawdopodobniej jeden z mechanizmów przygotowujących endometrium do implantacji zapłodnionej komórki jajowej.

W kolejnym badaniu analizowano ekspresję białka RCAS1, Metallothioneiny oraz obecność limfocytów CD25+, CD69+, CD56+, CD16+, CD68+ w endometriozie jajnikowej oraz endometriozie zlokalizowanej w bliźnie po cięciu cesarskim (cesarean scare endometriosis). Metallothioneina jest bogatym w cysteinę białkiem cytozolu biorącym udział zarówno w procesach proliferacji jak i śmierci komórkowej. Wysoki poziom Metallothioneiny wykazano w prawidłowym endometrium sekrecyjnym w porównaniu do endometrium proliferacyjnego, ze szczytem ekspresji przypadającym na okno implantacyjne. Obecność Metallothioneiny stwierdzono również w endometriozie jajnikowej oraz w typie endometrioidalnym raka endometrium. Na podstawie prowadzonych badań stwierdzono istotnie niższą ekspresję RCAS1 w endometriozie jajnikowej oraz endometriozie w bliźnie po cięciu cesarskim w porównaniu do prawidłowego endometrium sekrecyjnego, przy braku różnic w jego ekspresji pomiędzy obiema rodzajami endometriozy. W przypadku Metallothioneiny najniższą ekspresję stwierdzono w komórkach gruczołowych endometriozy jajnikowej, w porównaniu z endometriozą w bliźnie po cięciu cesarskim oraz kontrolnym endometrium. Również ekspresja RCAS1 była istotnie niższa w gruczołowej warstwie endometriozy w bliźnie po cięciu cesarskim, w porównaniu do endometrium kontrolnego. W odróżnieniu do DFF45, w przypadku Metallothioneiny stwierdzono jej istotnie wyższą ekspresję w podścielisku endometriozy jajnikowej, w porównaniu to jej warstwy gruczołowej.

W retrospektywnym badaniu kohortowym analizowano ryzyko względne (Relative Risk, RR) oraz iloraz szans (Odds Ratio, OR) wystąpienia endometriozy w bliźnie po cięciu cesarskim w zależności od wykonania cięcia cesarskiego przed rozpoczęciem porodu oraz śródporodowo. Do badania włączono 81 pacjentek leczonych operacyjnie z potwierdzoną histopatologicznie endometriozą w bliźnie po cięciu cesarskim. Zwiększone ryzyko endometriozy w bliźnie po cięciu cesarskim obserwowano u kobiet, u których cięcie cesarskie zostało wykonane przed rozpoczęciem akcji porodowej w porównaniu do pacjentek, u których cięcie cesarskie wykonano śródporodowo, po spontanicznym, samoistnym rozpoczęciu porodu (RR = 2.16, 95% CI = 1.21-3.83; OR = 2.18, 95% CI = 1.22-3.89). Biorąc pod uwagę, że w trakcie ciąży zachodzą istotne zmiany w funkcjonowaniu układu immunologicznego matki, w tym rozwija się tolerancja immunologiczna na antygeny płodu, wnioskowano, że istotnie wyższe ryzyko rozwoju endometriozy w bliźnie po cięciu cesarskim u pacjentek, u których cięcie cesarskie wykonano przed rozpoczęciem porodu jest związane z faktem, że w tym momencie istniała tolerancja immunologiczna, pozwalająca również na rozwój endometriozy. Jedną z koncepcji rozpoczęcia porodu jest hipoteza zaniku tolerancji immunologicznej, co wyzwała reakcje na antygeny płodu, prowadząc do rozpoczęcia porodu. Ta hipoteza tłumaczy, że w przypadku cięć cesarskich wykonywanych po spontanicznym rozpoczęciu porodu, a więc po zaniku tolerancji immunologicznej, ryzyko rozwoju endometriozy w bliźnie po cięciu cesarskim jest istotnie niższe.

W kolejnych badaniach analizowano poziom ekspresji RCAS1 oraz antygenów CD3, CD25, CD56 i CD69 w doczesnej pacjentek z rozpoznaną ciążą obumarłą w III trymestrze i zakwalifikowanych do farmakologicznej indukcji porodu. W farmakologicznej indukcji porodu u wszystkich pacjentek stosowano wlew kroplowy z oksytocyną (5U oksytocyny w 0,5L 0,9% NaCl) w dawce początkowej 2 kropli na minutę, zwiększanej co 5 min o kolejne 2 krople do osiągnięcia regularnej czynności skurczowej w okresie obserwacji wynoszącym 24 godziny. Takie postępowanie było skuteczne u 16 pacjentek (Grupa A), natomiast 15 pacjentek, ze względu na brak efektu podawania oksytocyny otrzymało 200µg Prostaglandyny E1 dopochwowo co 6 godzin do urodzenia dziecka (Grupa B). W doczesnej pacjentek z Grupy A wykazano istotnie niższą medianę ekspresji RCAS1 w porównaniu do doczesnej pacjentek z Grupy B [0 (rozstęp międzykwartylowy: 0) vs. 1 (rozstęp międzykwartylowy: 1); p=0,019], nie stwierdzono istotnych różnic w ekspresji antygenów CD. Na podstawie uzyskanych wyników wnioskowano, iż wysoka ekspresja RCAS1 hamuje wpływ czynników immunologicznych

wyzwalających czynność skurczową macicy, w związku z powyższym konieczne było miejscowe zastosowanie prostaglandyn celem uzyskania efektu terapeutycznego.

Analiza ekspresji Metallothioneiny oraz komórek immunologicznych CD56+ i CD69+ w przypadkach ciąży ektopowych oraz poronień samoistnych była ostatnim etapem projektu badawczego. Do badania zakwalifikowano 9 pacjentek z pękniętą ciążą jajowodową, 7 pacjentek z niepękniętą ciążą jajowodową oraz 25 pacjentek z poronieniem samoistnym w I trymestrze ciąży. Grupę kontrolną stanowiło 17 kobiet od których pobrano endometrium w sekrecyjnej fazie cyklu miesięczkowego. Ekspresje Metallothioneiny oraz antygenów CD56 i CD69 oceniano odpowiednio w mięśniówce jajowodu, doczesnej oraz endometrium sekrecyjnym przy użyciu metod immunohistochemicznych. Stwierdzono istotnie niższą liczbę komórek CD56+ w mięśniówce jajowodu w niepękniętej ciąży jajowodowej w porównaniu ciążą pękniętą ( $p=0.003$ ). Liczba komórek CD56+ w mięśniówce jajowodu w przypadku ciąż ektopowych (pękniętych i niepękniętych analizowanych wspólnie), była istotnie niższa w porównaniu do doczesnej w przypadkach poronień samoistnych ( $p<0,001$ ) oraz endometrium grupy kontrolnej ( $p<0.001$ ), równocześnie liczba komórek CD56+ w doczesnej, była istotnie wyższa od tej ocenianej w kontrolnym endometrium sekrecyjnym ( $p=0.002$ ). We wszystkich badanych próbkach mięśniówki jajowodu oraz doczesnej stwierdzono dodatnią korelację pomiędzy ekspresją antygenów CD56 i CD69 ( $R=0.54$ ;  $p<0.001$ ). Ekspresja Metallothioneiny w mięśniówce jajowodu z ciążą ektopową była istotnie mniejsza niż w endometrium kontrolnym ( $p=0.006$ ). Nie stwierdzono istotnych różnic w ekspresji Metallothioneiny w doczesnej w przypadkach ciąży obumarłej w porównaniu do kontrolnego endometrium sekrecyjnego. Obserwowano natomiast istotnie wyższą ekspresję Metallothioneiny w mięśniówce jajowodu w przypadku pękniętej, w porównaniu do niepękniętej ciąży jajowodowej ( $p=0.040$ ). W oparciu o uzyskane wyniki wnioskowano, że w przypadku ciąży ektopowej nie działają mechanizmy immunologiczne odpowiedzialne za miejscową immunotolerancję rozwijającego się zarodka, co może być jednym z mechanizmów niekontrolowanej inwazji trofoblastu i w konsekwencji pęknięcia ciąży jajowodowej.

- **Banas T**, Wicherek L, Popiela TJ, Gałązka K, Czekierdowski A, Oudinet JP, Opawski M, Kulczyka M, Basta A, Klimek M. Comparative analysis of DFF45 expression between eutopic and ectopic endometrium. *Polish Journal of Environmental Studies* 2005; 14 supl. II: 429-432.
- **Banas T**, Skotniczny K, Basta A. DFF45 expression in ovarian endometriomas. *Eur J Obstet Gynecol.* 2009; 147: 87-91.
- **Banas T**, Basta P, Knafel A, Skotniczny K, Jach R, Hajdyla-Banas Iwona I, Grabowska O. DFF45 expression in human endometrium is associated with menstrual cycle phases and decreases after menopause. *Gyn Obst Inv* 2012; 73: 177-182.
- Popiela TJ, Wicherek L, Radwan M, Sikora J, **Banas T**, Basta P, Kulczycka M, Grabiec M, Obrzut B, Kalinka J. The differences in RCAS1 and DFF45 endometrial expression between late proliferative, early secretory and mid-secretory cycle phases. *Folia Histochem Cyto.* 2007;45, Suppl. 1:157-162.
- Wicherek Ł, Dutsch-Wicherek M, Gałązka K, **Banaś T**, Popiela TJ, Lazar A, Podsiadło-Klainrog B. Comparison of RCAS1 and Metallothionein expression and the presence and activity of immune cells in human ovarian and abdominal wall endometriomas. *Reprod Biol Endocrinol.* 2006; 14: 41.
- Wicherek Ł, Klimek M, Skręt-Margieło J, Czekierdowski A, Banaś T, Popiela TJ, Karczowski J, Sikora J, Opławski M, Nowak A, Skręt A, Basta A. The Obstetrical History in Patients with Pfannenstiel Scar Endometriomas - An Analysis of 81 Patients. *Gynecol Obstet Invest* 2006;63:107-113.
- Gałązka K, Wicherek Ł, Sikora J, Czekierdowski A, **Banaś T**, Bednarek W, Obrzut B, Blecharz P, Reroń A, Kalinka J. RCAS1 Decidual Immunoreactivity during Stillbirth: Immune Cell Presence and Activity. *Am J Reprod Immunol.* 2008;60:513-522.
- Wicherek Ł, Gałązka K, Popiela TJ, Dutsch-Wicherek M, Czekierdowski A, Pabian W, **Banas T**, Migdał M, Klimek M. Metallothionein expression and infiltration of cytotoxic lymphocytes in uterine and tubal implantation site. *J Reprod Immunol.* 2006; 70: 119-131.

## (2) Ocena czynników ryzyka obniżonej masy kostnej oraz osteoporozy wśród kobiet

Osteoporoza to układowa choroba szkieletu, charakteryzująca się niską masą kostną, upośledzoną mikroarchitekturą tkanki kostnej, a w konsekwencji zwiększoną jej podatnością na złamania i łamliwość, dotyczy aż 25% populacji kobiet rasy kaukaskiej po 40. roku życia i aż 30% Polek po 50. roku życia. W badaniu analizowano przyczyny i motywacje do udziału w badaniach przesiewowych w kierunku osteoporozy – badania były bezpłatne i ogólnodostępne, Pomiar gęstości kości (bone mineral density, BMD) oraz ocenę mineralizacji kości (bone mineral content; BMC) wykonano z użyciem aparatu – Osteometr DTX-200 metodą podwójnej energii promieniowania rentgenowskiego (Dual Energy X-ray Absorptiometry – DXA). Pomiar obejmował okolicę dystalnych przynasad kości przedramienia (kość łokciową i promieniową) kończyny niedominującej. Zarówno dla BMD jak i BMC obliczono wskaźniki: T-score zdefiniowany jako liczba odchyłeń standardowych od wartości szczytowej masy kostnej u zdrowych, młodych kobiet, oraz Z-score - liczba odchyłeń standardowych od wartości średniej masy kostnej, właściwej dla analizowanego wieku i płci. Najczęstszą przyczyną udziału w badaniu przesiewowym była informacja uzyskana od lekarza podstawowej opieki zdrowotnej, że ze względu na czynniki ryzyka rozwoju osteoporozy dana osoba powinna skorzystać z możliwości wykonania badania przesiewowego (44%), te kobiety charakteryzowały się najniższym wskaźnikiem BMC T-score wynoszącym -1,9. Drugą co do częstości przyczyną była chęć poznania swojej masy kostnej (19%), kolejne to obawa przed osteoporozą (18%), rada rodziny i/lub znajomych (6%), natomiast bezpłatność badania była czynnikiem motywującym jedynie 1% uczestniczek. Trzydzieści sześć kobiet (12%) uczestniczyło w badaniu przesiewowym w kierunku obniżonej masy kostnej z innych niż wyżej wymienione przyczyny. Najwyższy średni wskaźnik BMD T-score, który wyniósł -0,8, miały kobiety zgłaszające się na badanie z powodu obawy przed osteoporozą, następnie kobiety deklarujące jako przyczyny udziału bezpłatność badań: -1,03 oraz ciekawość swoich wyników: -1,23; motywacja rodziny i/lub znajomych -1,41. Kobiety, które zgłosiły się z innych powodów miały średni wskaźnik BMD T-score -1,6. W kolejnym etapie badania analizowano wpływ miejsca zamieszkania na masę kostną kobiet z uwzględnieniem wieku oraz menopauzy. Z 520 uczestniczek 284 (54,6%) mieszkało i pracowało w gospodarstwach rolnych natomiast 236 (45,4%) mieszkało domach jednorodzinnych poza obszarem wiejskim i nie pracowało w rolnictwie. Prawidłowe wartości BMD T-score stwierdzono u 56,4% kobiet pracujących w gospodarstwach rolnych oraz 50,2% kobiet nie pracujących w rolnictwie. Nie stwierdzono statystycznie istotnych różnic w średnich wartościach BMD T-score, BMD Z-score, BMC T-score ani BMC Z-score w zależności od charakteru wykonywanej pracy uwzględniając zmienne, które mocno determinują masę kostną jak: wiek, wiek ostatniej miesiączki, wskaźnik masy ciała (Body Mass Index; BMI), dzienne spożycie wapnia, rekreacyjną aktywność fizyczną oraz używki (kawa, alkohol, tytoń) jako potencjalne czynniki zakłócające.

Podobna gęstość mineralna kości w populacji kobiet zamieszkałych i pracujących w gospodarstwach rolnych oraz kobiet mieszkających poza nimi może wynikać z następujących przyczyn: (1) obydwie populacje narażone są na te same czynniki ryzyka osteoporozy, (2) obydwie populacje różnią się pod względem narażenia na czynniki ryzyka rozwoju osteoporozy, jednakże efekt końcowy działania różnych czynników jest podobny w tych populacjach, (3) być może istnieją inne, niezidentyfikowane w powyższym badaniu, czynniki zakłócające, które wpływają na wynik. Nie bez znaczenia jest również fakt, że klasyczny podział na środowisko miejskie i wiejskie w ostatnim dwóch dekadach uległ zatarciu, a samo miejsce zamieszkania oraz charakter wykonywanej pracy wydają się obecnie niewystarczające aby w pełni dokonać podziału na populację miejską i populację wiejską.

- **Banaś T**, Mosur K, Hajdyła I, Banaś B. Analiza gęstości mineralnej kości u kobiet zamieszkałych i pracujących w gospodarstwach rolnych i poza nimi, uczestniczących w badaniach profilaktycznych w kierunku osteoporozy. Med. Środ. 2006; 9: 39-44.

- **Banaś T**, Klimek M, Skotniczny K, Gruca-Banaś L. Badania przesiewowe w kierunku obniżonej masy kostnej metodą DXA – analiza przyczyn udziału pacjentów. *Reumatologia*. 2005; 43: 117-121.

### (3) Badania wiedzy studentów medycyny na temat hormonalnych metod antykoncepcji oraz analiza czynników wpływających na wybór metody antykoncepcyjnej wśród kobiet leczonych leflunomidem z powodu reumatoidalnego zapalenia stawów

Antykoncepcja hormonalna jest drugą, po stosowaniu prezerwatywy, najczęściej wybieraną metodą antykoncepcyjną, szczególnie wśród młodych kobiet. Badanie ankietowe oceniające wiedzę dotyczącą antykoncepcji hormonalnej oraz własne doświadczenia uczestników w zakresie jej stosowania przeprowadzono wśród studentów Wydziału Lekarskiego Uniwersytetu Jagiellońskiego Collegium Medicum. Wykazano, że wraz z zaawansowaniem nauki rosła wiedza na temat antykoncepcji hormonalnej, w szczególności wskazań, przeciwwskazań do jej zastosowania, oraz działań niepożądanych. Równocześnie obserwowano zwiększony odsetek studentek stosujących antykoncepcję, jak również studentów, których partnerki stosowały antykoncepcję w zależności od czasu trwania studiów, z wartości 13.19% w pierwszym roku studiów do wartości 53% w ostatnim roku studiów. Równocześnie studenci wyższych lat studiów deklarowali, że posiadają większą wiedzę na temat antykoncepcji hormonalnej, która wg nich jest wystarczająca, w porównaniu do wiedzy z początkowych lat studiów. Obiektywna analiza wiedzy na temat antykoncepcji hormonalnej, pomimo deklarowanej przez studentów dużej i wystarczającej wiedzy na ten temat, wykazała, że obiektywny poziom wiedzy dotyczącej antykoncepcji był niższy od deklarowanego. Najwyższą obiektywną wiedzę na temat antykoncepcji hormonalnej wykazali się studenci III roku studiów. Ponieważ był to wynik nieoczekiwany, analizie poddano programy nauczania, wszystkich studentów do momentu udziału w badaniu. Stwierdzono, iż studenci lat I-III studiowali wg nowego programu nauczania w porównaniu do studentów lat IV-VI. Wobec niezidentyfikowania potencjalnych czynników zakłócających uznano, iż program nauczania oraz czas nauki są głównymi czynnikami determinującymi wiedzę na temat antykoncepcji hormonalnej wśród studentów Wydziału Lekarskiego Uniwersytetu Jagiellońskiego Collegium Medicum.

Kolejne badania dotyczyły stosowania antykoncepcji wśród kobiet leczonych leflunomidem z powodu reumatoidalnego zapalenia stawów (RZS). RZS jest autoimmunologiczną chorobą zapalną dotyczącą 0,5%-3% dorosłej populacji, przede wszystkim kobiet. Leflunomid jest lekiem immunomodulującym, zmniejszającym liczbę aktywowanych limfocytów T oraz hamującym proliferację limfocytów B i T oraz proliferację komórek mięśni gładkich in vitro, należy do grupy leków modyfikujących przebieg choroby (Diseases Modifying Antirheumatic Drugs, DMARD). Z uwagi na możliwy teratogeny wpływ na zarodek i płód leczenie leflunomidem jest przeciwwskazane u kobiet ciężarnych, a każda pacjentka w trakcie terapii oraz optymalnie do dwóch lat po zakończeniu leczenia powinna stosować skuteczną antykoncepcję. Do prospektywnego badania kliniczno-kontrolnego włączono 81 pacjentek z RZS, z których 43% było po menopauzie i nie wymagało stosowania antykoncepcji, grupę kontrolną stanowiło 107 zdrowych kobiet w wieku reprodukcyjnym. Plany prokreacyjne po zakończeniu leczenia leflunomidem deklarowało 10.90% pacjentek z grupy badanej. Najczęstszą formą antykoncepcji w grupie badanej była doustna estrogenowo-progesteronowa antykoncepcja hormonalna (48.40%), następnie metody naturalne (32.20%), prezerwatywy (16.10%) oraz wkładki wewnątrzmaciczne (3.20%). Struktura stosowanych metod antykoncepcyjnych w grupie badanej istotnie różniła się w porównaniu do grupy kontrolnej ( $p < 0.001$ ), w której dominowało stosowanie prezerwatyw (56.80%), następnie estrogenowo-progesteronowa antykoncepcja hormonalna (35.30%), doustna tabletki gestagenna (3.95%) oraz metody naturalne (3,95%). Niepokojącym wynikiem było stwierdzenie, iż 32.00% kobiet w wieku reprodukcyjnym w grupie badanej nie stosowało żadnych metod antykoncepcji, przy czym aż 40.00% z nich nie stosowało

antykoncepcji pomimo zaleceń lekarskich, a kolejne 20.00% nie zostało poinformowane o takiej konieczności przez reumatologa. Jedynie 13.30% kobiet z grupy badanej będących w wieku reprodukcyjnym było trwale niezdolnych do zajścia w ciążę, pozostałe 26.70% deklaroowało pełną abstynencję seksualną. Na podstawie uzyskanych wyników stwierdzono, że struktura stosowanych metod antykoncepcyjnych u kobiet leczonych leflunomidem z powodu RZS różni się w sposób istotny w porównaniu do struktury stosowanej antykoncepcji przez zdrowe kobiety i istotnie zależy od wcześniejszych doświadczeń ze stosowaniem antykoncepcji oraz rekomendacji lekarskich. Niepokojącym zjawiskiem pozostaje niestosowanie przez dużą liczbę pacjentek skutecznej antykoncepcji w trakcie terapii leflunomidem pomimo silnych rekomendacji lekarskich lub w wyniku nieotrzymania od lekarza takich rekomendacji.

- Polak K, Pityński K, **Banaś T**, Bubel M, Kałwa M, Jamroga J, Knysak M, Kusior M, Truszkiewicz K, Oleksy P. The influence of medical education level on the Jagiellonian University Collegium Medicum medical students' knowledge concerning oral hormonal contraceptive pills. *Folia Med Cracov.* 2016;56:31-41.
- **Banas T**, Hadyla-Banas I, Pityński K, Bereza K, Migdal M, Batko B. Use of contraception by women treated with leflunomide .due to rheumatic arthritis. *J Obst Gyn* 2014; 34: 60–64.

#### (4) Analiza ryzyka infekcji pochwy w kontekście działania miejscowych czynników antybakteryjnych

Pierwszy etap badania przeprowadzono przy ścisłej współpracy z Wydziałem Biochemii Uniwersytetu Jagiellońskiego miał na celu identyfikację hemocydyn w odchodach połogowych pacjentek poddanych elektywnemu oraz śródporodowemu cięciu cesarskiemu w I i w II okresie porodu. Hemocydyny (antibacterial peptide fragments derived from hemoglobin subunits; hemocidines) to peptydy powstające z hemoglobiny w wyniku zakwaszenia środowiska. Charakteryzują się działaniem antybakteryjnym i stanowią jeden z mechanizmów niespecyficznej ochrony organizmu przed infekcją. Na podstawie przeprowadzonych analiz laboratoryjnych potwierdzono obecność hemocydyn zarówno w odchodach połogowych, jak również we krwi miesięczkowej. Mniejsze średnie stężenie hemocydyn stwierdzono w odchodach połogowych pacjentek po elektywnym cięciu cesarskim ( $0.05251 \pm 0.02339$  g/dL) w porównaniu do średniego stężenia hemocydyn w odchodach połogowych pacjentek po śródporodowym cięciu cesarskim, przy czym wyższe stężenie obserwowano w odchodach połogowych pacjentek u których cięcie cesarskie wykonano w II okresie porodu ( $0.1194 \pm 0.03540$  g/dL), w porównaniu do odchodów połogowych pacjentek, które miały wykonane cięcie cesarskie w I okresie porodu ( $0.08483 \pm 0.03142$  g/dL). Nie wykazano istotnych różnic pomiędzy średnim stężeniem hemocydyn w odchodach połogowych pacjentek, które miały elektywne cięcie cesarskie w porównaniu do pacjentek, które miały wykonane cięcie cesarskie w I okresie porodu ( $p=0.052$ ), jak również nie wykazano istotnych różnic pomiędzy średnim stężeniem hemocydyn w odchodach połogowych kobiet, u których wykonano cięcie cesarskie I oraz w II okresie porodu ( $p=0.058$ ). Istotne różnice wykazano natomiast pomiędzy średnim stężeniem hemocydyn w odchodach połogowych kobiet, u których wykonano cięcie cesarskie w II okresie porodu, w porównaniu do pacjentek poddanych elektywnemu cięciu cesarskiemu ( $p=0.002$ ). Na podstawie uzyskanych wyników stwierdzono, iż hemocydyny stanowią istotny, nieswoisty mechanizm przeciwinfekcyjny w okresie poporodowym, a ich zmniejszone stężenie u kobiet poddanych elektywnemu cięciu cesarskiemu, jak również cięciu cesarskiemu w I okresie porodu, może stanowić istotny czynnik ryzyka infekcji pooperacyjnych narządu rodowego.

W kolejnym prospektywnym, obserwacyjnym badaniu klinicznym analizowano wystąpienie infekcji urogenitalnych w kohorcie 567 kobiet w pięcioletnim okresie obserwacji, w zależności od narażenia na czynniki ryzyka oraz charakterystyki cyklu miesięczkowego. Wykazano, że kobiety, u których wystąpiła przynajmniej jedna infekcja urogenitalna w okresie obserwacji charakteryzowały się istotnie krótszym czasem miesięczkowania w porównaniu do kobiet zdrowych ( $4.35 \pm 1.42$  vs.  $4.95 \pm 1.20$

dni;  $p < 0.001$ ). Dodatkowo w wieloczynnikowej analizie wariancji wykazano, że miesiączki trwające  $\leq 3.0$  dni stanowią niezależny czynnik ryzyka infekcji urogenitalnych u kobiet.

W ostatnim etapie badania analizowano wiedzę lekarzy podstawowej opieki zdrowotnej pracujących w Wielkiej Brytanii (Grupa A) oraz w Polsce (grupa B), w porównaniu do wiedzy specjalistów położnictwa i ginekologii (Grupa C) na temat infekcji urogenitalnych kobiet. Jako narzędzia badawczego użyto autorskiego, anonimowego i uprzednio zwalidowanego kwestionariusza w dwóch tożsamy wersjach: polskiej i angielskiej, który zawierał 15 zamkniętych pytań jednokrotnego wyboru oraz 5 pytań otwartych. Badaniem kwestionariuszowym objęto 57 lekarzy otrzymując 100% poziom odpowiedzi. Wykazano wysoką wiedzę na temat infekcji urogenitalnych wśród wszystkich lekarzy, nie stwierdzając istotnych różnic w poziomie wiedzy pomiędzy analizowanymi grupami respondentów.

- Wicherek Ł, Mak P, Klimek M, **Banas T**. The length of menstrual bleeding and the risk of urogenital infections in the context of the activity of hemoglobin derived microbicidal peptides. Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol 2007;131:97-100.
- Mak P, Wcherek Ł, Suder P, Dubin A, **Banas T**, Kaim I, Klimek M. Analysis of free hemoglobin level and hemoglobin peptides from human puerperal uterine secretions. J Soc Gynecol Investig. 2006; 13: 285-291.
- **Banaś T**, Haber M, Kycia J. Menstruacja a infekcje urogenitalne kobiet w praktyce lekarzy podstawowej opieki zdrowotnej. Prob Med. Rodzinnej 2007;19:129-131.

#### (5) Analiza efektów leczenia reumatoidalnego zapalenia stawów oraz wpływ terapii na zdrowie prokreacyjne kobiet

Reumatoidalne zapalenie stawów (RZS) jest przewlekłą, systemową chorobą zapalną o podłożu autoimmunologicznym, na którą kobiety chorują sześć razy częściej niż mężczyźni. W pierwszej linii leczenia RZS stosuje się leki modyfikujące przebieg choroby (disease-modifying antirheumatic drugs, DMARDs) do których należą: metortexat (MTX), sulfasalazyna oraz leflunomid (LFM). Stan kliniczny pacjentów oceniano za pomocą wskaźnika aktywności choroby (Disease Activity Score 28; DAS28) wyliczanym na podstawie liczby bolesnych i obrzękniętych stawów, wartości odczynu Biernackiego (mm/godz.) i ogólnego stanu zdrowia pacjenta w skali VAS (Visual Analog Scale 0 – 100 mm). Celem oceny wpływu choroby na jakość życia pacjentów stosowano kwestionariusz oceny zdrowia (Health Assessment Questionnaire; HAQ), który został wprowadzony jako narzędzie badawcze w 1978 roku przez Firisę i obejmuje pięć dziedzin stylu życia i zachowani prozdrowotnych oraz dodatkowe pytania z zakresu danych demograficznych.

W prospektywnym badaniu kohortowym 261 pacjentów leczonych LFM potwierdzono skuteczność zastosowanego leczenia niezależnie od wieku, czasu trwania choroby podstawowej oraz uprzednio zastosowanego leczenia, mierzony zmniejszeniem średniej wartości DAS o 1.5 punktu, co było wartością statystycznie istotną ( $p < 0.001$ ). Najlepszy efekt terapeutyczny uzyskano wśród chorych w wieku 45-65 lat, osiągając dobry u 63% pacjentów, a u kolejnych 25% średni wynik terapeutyczny. Działania niepożądane wystąpiły u 18.8% leczonych, jednakże tylko u 8.8% konieczne było przerwanie terapii. Dokładne wyniki dotyczące działań niepożądanych stosowania LFM przedstawiono w paragrafie dotyczącym bezpieczeństwa pacjenta.

W trakcie leczenia LFM, pomimo poinformowania pacjentek w sposób zrozumiały o konieczności stosowania skutecznej antykoncepcji w trakcie leczenia oraz dwa lata po jego zakończeniu (co potwierdzały własnym podpisem w dokumentacji lekarskiej) odnotowano dwa przypadki ciąży. Pacjentki zgłosiły się do reumatologa odpowiednio w 6+2 oraz w 8+1 tygodniu ciąży. W tym samym dniu wdrożono procedurę wyłukiwania leku z organizmu i odstawiono LFM. Pacjentki były następnie konsultowane położniczo w Klinice Ginekologii i Onkologii Szpitala Uniwersyteckiego w Krakowie zgodnie ze standardami prowadzenia ciąży wg Polskiego Towarzystwa Ginekologicznego, a także

pozostawały pod stałą opieką reumatologiczną. Obydwie ciąży przebiegały prawidłowo, jedynie pierwsza z pacjentek była hospitalizowana w 33. tygodniu ciąży z powodu zagrażającego porodu przedwczesnego, który skutecznie leczono. Pierwsza pacjentka zgłosiła się w 41. tygodniu ciąży na salę porodową w I okresie porodu. Z powodu nieregularnej czynności skurczowej włączono oksytocynę i po 5 godzinach i 30 minutach porodu urodzono córkę żywą donoszoną o ciężarze ciała 2450g i punktacji Appgar 9 w 1. minucie i 10 w 5. minucie. Poród i połóg bez powikłań. Druga z pacjentek zgłosiła się w 38. tygodniu ciąży, w pierwszym okresie porodu i została przyjęta na salę porodową. Z powodu nieregularnej czynności skurczowej włączono oksytocynę i po 3 godzinach i 40 minutach urodzono córkę zdrową, donoszoną o ciężarze ciała 3200g i punktacji Appgar 10 odpowiednio w 1. i 5. minucie. Poród i połóg bez powikłań. Nie stwierdzono żadnych wad ani nieprawidłowości u obydwu noworodków, a w 6. miesiącu ich życia potwierdzono prawidłowy rozwój. Po zakończeniu laktacji obydwie pacjentki wróciły do leczenia LMF. Pomimo bezwzględnych przeciwwskazań do stosowania LMF w trakcie ciąży, co wiąże się ze zwiększonym ryzykiem wad wrodzonych u zwierząt, a prawdopodobnie też u ludzi, jak również ze wzrostem ryzyka porodu przedwczesnego i wewnątrzmacicznego ograniczenia wzrostu płodu, przerwanie terapii LFM i wdrożenie procedury wyflukowania leku na wczesnym etapie ciąży zwiększa szanse na prawidłową ciążę, poród i rozwój noworodka.

W prospektywnych badaniach obserwacyjnych obejmujących kohortę 146 pacjentów przeprowadzono uprzednio wystandaryzowany i zwalidowany wywiad telefoniczny, w którym oceniano przestrzeganie wskazań lekarskich dotyczących przyjmowania DMARD przez pacjentów z RZS po wypisie ze szpitala. Zgodę na udział w badaniu wyraziło 137 respondentów, z których 24 (17.5%) jednak deklarowało, że nie przyjmuje leków zgodnie z zaleceniami lekarskimi. Najczęściej deklarowanym powodem niestosowania zaleconego leczenia było wystąpienie objawów niepożądanych, co miało miejsce u 11 (45.9%) pacjentów; 3 osoby (12.5%) odstawiły lek ze względu na nieskuteczność leczenia; 2 pacjentów (8.3%) z powodów finansowych, a kolejne 2 osoby (8.3%) czuły się na tyle dobrze, że nie widziały potrzeby kontynuacji terapii. Inny powód samodzielnego odstawienia leczenia podało 6 (24.9%) pacjentów, w większości były to stany chorobowe stanowiące przeciwwskazania do stosowania LMPCH. Stosując model regresji czynnikowej nie wykazano, aby wiek ( $p=0.507$ ), wskaźnik aktywności DAS28 ( $p=0.945$ ), płeć ( $p=0.362$ ) i wykształcenie ( $p=0.681$ ) były niezależnymi czynnikami wpływającymi istotnie na przestrzeganie zaleceń terapeutycznych. Głównym czynnikiem decydującym o zmianie leczenia było wystąpienie objawów niepożądanych w trakcie terapii.

W przeprowadzonych wcześniej badaniach dotyczących stosowania antykoncepcji u kobiet z RZS prawie 11% pacjentek deklarowało plany prokreacyjne pomimo choroby przewlekłej. W związku z tym w kolejnym badaniu postanowiono przeanalizować wpływ czasu trwania RZS oraz leczenia MTX na wiek wystąpienia menopauzy i ryzyko wystąpienia przedwczesnego wygasania czynności jajników (premature ovary failure; POF). Do retrospektywnego badania kliniczno-kontrolnego zakwalifikowano 342 pacjentki z rozpoznaniem RZS w wieku reprodukcyjnym (Grupa A) oraz 407 kobiet z RZS zdiagnozowanym po menopauzie (Grupa B) - grupę kontrolną stanowiło 418 zdrowych kobiet po menopauzie. Średni wiek wystąpienia menopauzy w Grupie A wyniósł 48.700 ( $\pm 3.87$ ) lat i był istotnie niższy od średniego wieku wystąpienia menopauzy w Grupie B, który wyniósł 49.995 ( $\pm 2.47$ ) lat ( $p<0.001$ ) oraz w grupie kontrolnej - 51.20 ( $\pm 3.07$ ) lat ( $p<0.001$ ). Również średni wiek wystąpienia menopauzy w Grupie B różnił się w sposób istotny od średniego wieku wystąpienia menopauzy w grupie kontrolnej (49.95 $\pm$ 2.47 lat vs. 51.20 $\pm$ 3.07;  $p<0.001$ ). Na podstawie wieloczynnikowej analizy wariancji wykazano, iż jedynie wiek wystąpienia RZS był niezależnym czynnikiem wpływającym na wiek wystąpienia menopauzy oraz, że był on niezależny od wskaźnika masy ciała, wieku w którym wystąpiła pierwsza miesiączka oraz czasu leczenia i dawki MTX. Ponadto stwierdzono, że wystąpienie RZS przed 35. rokiem życia wiąże się z istotnym zwiększeniem ryzyka rozwoju POF (Ryzyko względne: 9.211;



95%CI: 1.811 - 46.856;  $p < 0.008$ ; Iloraz szans: 9.541; 95%CI: 1.826-49.848;  $p < 0.008$ ). Na podstawie przeprowadzonego badania stwierdzono, że długotrwała terapia MTX jest bezpieczna i nie wpływa w sposób istotny na wiek wystąpienia menopauzy, natomiast RZS, jako schorzenie autoimmunologiczne, może negatywnie wpływać na funkcje hormonalną jajników, szczególnie gdy wystąpi w młodym wieku.

- Hajdyla I, Skura A, **Banas T**, Batko B. Analiza skuteczności i bezpieczeństwa terapii leflunomidem w zależności od wieku pacjentów i czasu trwania reumatoidalnego zapalenia stawów. *Reumatologia* 2007;45:11-17.
- Hajdyla-Banas I, **Banas T**, Rydz-Stryzowska I, Batko B, Skura A, Gornisiewicz T, Pitynska-Korab E. Pregnancy course and neonatal outcome after exposure to leflunomide – 2 cases report and review of literature. *Prz Lek.* 2009; 66: 1069-1071.
- Chrzanowska A, Batko B, Hajdyla-Banas I, **Banas T**, Krezelok M, Ludwin A. Adherence to disease-modifying antirheumatic drugs in patients with rheumatoid arthritis. *Przeg Lek.* 2014; 71:199-203
- **Banas T**, Hajdyla-Banas I, Pitynski K, Nieweglowska D, Juszczyk G, Ludwin A, Knafel A, Ludwin I. Age at natural menopause in women on long-term methotrexate therapy for rheumatoid arthritis. *Menopauze.* 2016; 23:1130-1138.

#### (6) Ocena wartości klinicznej różnych metod diagnostycznych łagodnych i złośliwych guzów jajników oraz ocena rezerwy jajnikowej u kobiet z guzami jajników o charakterze torbieli endometrialnych

Guzy jajników stwierdzane są zazwyczaj w rutynowym badaniu ginekologicznym, uzupełnionym przezpochwowym badaniem ultrasonograficznym (USG-TV). Częstość występowania guzów jajników w populacji ogólnej kobiet szacuje się na 0,8% - 1,8%, przy czym nowotwory złośliwe stanowiły od 0% do 57% wszystkich zmian jajników w zależności od badanych kohort. Z klinicznego punktu widzenia najistotniejsze jest różnicowanie pomiędzy łagodnymi guzami przydatków, które mogą być leczone w oddziałach ginekologicznych, a nowotworami złośliwymi, które powinny być niezwłocznie leczone, optymalnie w ośrodkach ginekologii onkologicznej. Wprowadzono wiele algorytmów, opartych na badaniach laboratoryjnych oraz obrazowych, celem przedoperacyjnej oceny ryzyka złośliwości guzów jajników. Żadna z metod nie okazała się istotnie lepsza w praktyce klinicznej. W prowadzonym prospektywnym klinicznym badaniu kohortowym analizowano przydatność kliniczną algorytmu IOTA (International Ovarian Tumor Analysis) w różnicowaniu łagodnych i złośliwych guzów jajnika w zależności od doświadczenia osoby wykonującej badanie USG-TV oraz cech ultrasonograficznych guza. Badaniem objęto 257 kobiet z rozpoznaniem guza jajnika, wśród których w pooperacyjnym badaniu histopatologicznym rozpoznano 82 przypadki nowotworów złośliwych. Potwierdzono wysoką dokładność diagnostyczną (ACC) algorytmu IOTA zarówno gdy USG-TV wykonywał lekarz z małym doświadczeniem tj. w trakcie szkolenia specjalizacyjnego w dziedzinie położnictwa i ginekologia, który rocznie wykonuje mniej niż 500 badań USG-TV, jak i lekarz z dużym doświadczeniem w ultrasonografii, zdefiniowanym jako posiadanie specjalizacji w dziedzinie położnictwa i ginekologii, certyfikatu umiejętności wykonywania badań USG-TV oraz wykonywanie co najmniej 1000 badań USG-TV rocznie (ACC odpowiednio: 0.872 i 0.916). Najwyższe wartości ACC (0.987) uzyskano, gdy badanie było wykonywane przez eksperta w dziedzinie ginekologicznej ultrasonografii onkologicznej i zinterpretowane w oparciu o własną wiedzę i doświadczenie – tzw. subjective assessment (SA). Wykonując USG-TV wg algorytmu IOTA w analizowanej kohorcie pacjentek z guzami jajników osoba z małym doświadczeniem w ultrasonografii nie była w stanie w 40 przypadkach określić charakteru zmiany i pacjentki wymagały konsultacji eksperta w oparciu o ocenę subiektywną. Najczęstszą przyczyną niediagnostycznych wyników badania USG-TV było współwystępowanie cechy łagodnej (B) oraz złośliwej (M), morfologia zmiany oraz obecność lub brak ceni akustycznych. W przeprowadzonym badaniu potwierdzono kliniczną przydatność algorytmu IOTA w ocenie ryzyka złośliwości guzów jajnika.

W kolejnym prospektywnym badaniu kliniczno-kontrolnym oceniano wartość algorytmu ROMA (Risk of Ovarian Malignancy Algorithm) w ocenie ryzyka złośliwości guzów jajnika, oraz analizowano, czy uzupełnienie algorytmu ROMA o oznaczanie progesteronu wpłynie na zwiększenie dokładności

diagnostycznej, czułości i specyficzności tej metody diagnostycznej. Metoda ROMA, na podstawie poziomu antygenu Ca-125 oraz białka HE4 (human epididymis protein 4), które zidentyfikowano w komórkach najądrzy, ocenia procentowo ryzyko złośliwości guza jajnika stosując osobne punkty odcięcia dla kobiet przed i po menopauzie. Do badania włączono 75 kobiet, u których w pooperacyjnym badaniu histopatologicznym stwierdzono raka jajnika (pacjentki z nienabłonkowymi nowotworami złośliwymi jajnika wyłączone z badania) oraz 150 pacjentek z łagodnymi guzami jajników, które stanowiły grupę kontrolną. W ramach diagnostyki przedoperacyjnej oznaczono poziom antygenu Ca-125, białka HE4 oraz progesteronu we krwi pobranej z żyły łokciowej. Wykazano, że dodanie oznaczenia progesteronu do algorytmu ROMA jest uzasadnione tylko w przypadku pacjentek przed menopauzą i pozwala zwiększyć dokładność diagnostyczną z 0.899 do 0.968 oraz specyficzność z 0.857 do 0.976 metody przy zachowanej czułości na poziomie 0.953. W prowadzonych badaniach potwierdzono kliniczną przydatność metody ROMA w diagnostyce różnicowej guzów jajnika oraz wykazano, że uzupełnienie metody ROMA o oznaczenie progesteronu w surowicy krwi zwiększa dokładność diagnostyczną oraz czułość metody jedynie u pacjentek przed menopauzą.

W prospektywnym badaniu kliniczno-kontrolnym analizowano poziom hormonu anti-Mullerowskiego (anti-Mullerian hormone; AMH) we krwi żyłnej pacjentek z jednostronnymi i obustronnymi endometrialnymi torbielami jajnika. Do badania włączono 157 pacjentek z jednostronnymi oraz 75 pacjentek z obustronnymi torbielami endometrialnymi jajnika o średnicy co najmniej 40mm. Grupę kontrolną stanowiło 149 zdrowych kobiet. Wykreślono trendy zależności mediany stężenia AMH od wieku w grupie pacjentek z jednostronnymi i obustronnymi torbielami jajników oraz w grupie kontrolnej. Porównując mediany stężeń AMH w okresach 5-letnich stwierdzono istotnie niższe mediany stężeń AMH w grupie pacjentek z obustronnymi torbielami endometrialnymi jajników w porównaniu do pacjentek z jednostronnymi endometrioma oraz do kobiet w grupie kontrolnej dla wieku od 18 do 42 lat. Nie stwierdzono istotnych różnic w medianach stężenia AMH między pacjentkami z jednostronnymi torbielami endometrialnymi a kobietami z grupy kontrolnej. Dodatkowo wykazano brak istotnych różnic w medianach stężeń AMH w grupie wiekowej 43-48 lat pomiędzy trzema analizowanymi grupami. W analizie wieloczynnikowej stwierdzono iż wiek pacjentki w chwili badania oraz obustronne występowanie torbieli endometrialnych jajników stanowiły niezależne czynniki ryzyka obniżonego poziomu AMH w surowicy krwi. Na podstawie uzyskanych wyników wnioskowano, że obustronna endometrioza jajników jest istotnym czynnikiem ryzyka obniżenia rezerwy jajnikowej, mierzonej poziomem AMH w surowicy krwi, szczególnie u kobiet poniżej 42. roku życia.

- Knafel A, **Banas T**, Nocun A, Wiecheć M, Jach R, Ludwin A, Kabzińska-Turek M, Pietrus M, Pitynski K. The prospective external valuation of IOTA Simple Rules in the hands of level I and II examiners. *Ultraschall in Med.* 2015; 36: 1-8
- Pitynski K, Sporek A, Lipinska I, **Banas T**, Ludwin A, Balajewicz-Nowak M. Significance of adding progesterone to the Risk of Ovarian Malignancy Algorithm (ROMA) for early-stage ovarian cancer detection in patients with a pelvic mass: a single-center case-control study. *Taiwan J Obstet Gynecol.* 2015; 54: 766-772.
- Niewęgłowska D, Hajdyla-Banas I, Pitynski K, **Banas T**, Grabowska O, Juszczyk G, Ludwin A, Jach R. Age-related trends in anti-Mullerian hormone serum level in women with unilateral and bilateral ovarian endometriomas prior to surgery. *RBE.* 2015; 13: 128.

#### (7) Analiza częstości występowania infekcji szyjki macicy wirusem brodawczaka ludzkiego oraz nieprawidłowych wyników badania cytologicznego szyjki macicy w aspekcie efektów terapeutycznych zastosowania konizacji pętłą elektryczną o wysokiej częstotliwości

W prospektywnym badaniu kliniczno-kontrolnym analizowano częstość występowania infekcji wirusem brodawczaka ludzkiego (Human Papilloma Virus, HPV) u pacjentek z nieprawidłowym

wynikiem przesiewowego badania cytologicznego w kierunku raka szyjki macicy. Do badania włączono pacjentki, u których wynik przesiewowego badania cytologicznego obejmował rozpoznanie atypowych komórek nabłonka płaskiego (Atypical Squamous Cells, ASC; n=207) oraz rozpoznanie atypowych komórek nabłonka gruczołowego (Atypical Glandular Cells, AGC; n=35). Grupę kontrolną stanowiło 200 kobiet z prawidłowym wynikiem przesiewowego badania cytologicznego szyjki macicy. Metodę Hybrid Capture-2 (HC-2) zastosowano celem genotypowania 13 onkogennych typów HPV (16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 68) oraz 5 typów HPV o niskim ryzyku onkologicznym (6, 11, 42, 43, 44). Wymaz cytologiczny z szyjki macicy pobierano w sposób typowy z użyciem profilowanej szczoteczki (Rovers® Cervex Brush, Rovers Medical Devices B.V, the Netherlands) rozprowadzając rozmaz na szkiełku podstawowym i utrwalając preparatem Cytofix (Cytofix®, Samko, Poland). Wśród rozpoznań cytologicznych ASC: 195 przypadków charakteryzowało się niskim ryzykiem zmian dużego stopnia (ASC-US), natomiast w 12 przypadkach nie można było wykluczyć obecności zmian dużego stopnia (ASC-H). Wśród rozpoznań AGC 26 przypadków dotyczyło komórek endocervix, pozostałe 9 komórek endometrium. Obecność infekcji HPV w grupie pacjentek z nieprawidłowymi wynikami cytologii (ASG+AGC) była istotnie wyższa niż w grupie kontrolnej kobiet (43.0% vs. 14.0%; p=0.005). Istotnie wyższy odsetek infekcji onkogennymi typami HPV stwierdzono w grupie pacjentek z cytologicznym wynikiem ASC-H w porównaniu do kobiet z wynikiem ASC-US oraz grupy kontrolnej (odpowiednio: 83.3% vs. 25.5%; p<0.001 oraz 83.3% vs. 10.0%; p<0.001).

W prospektywnym badaniu obserwacyjnym analizowano ekspresję naczyniowego czynnika wzrostu C (Vascular Endothelial Growth Factor C, VEGF-C) w zależności od stwierdzonej patologii nabłonka szyjki macicy. Kohortę liczącą 138 pacjentek z rozpoznaniami:

1. subklinicznej infekcji HPV (n=50) [w oparciu o dodatni wynik testu reakcji łańcuchowej polimerazy (polymerase chain reaction, PCR) w kierunku HPV-DNA dla typów 16, 18, 31, 33 i 45 przy braku objawów cytologiczno-kolposkopowych],
2. śródnabłonkowej neoplazji małego stopnia (Cervical Intraepithelial Neoplasia 1, CIN1) (n=50) oraz
3. śródnabłonkowej neoplazji średniego stopnia (Cervical Intraepithelial Neoplasia 2, CIN2) (n=38)

obserwowano przez okres 60 miesięcy w aspekcie wystąpienia remisji, progresji lub stabilizacji zmian patologicznych nabłonka szyjki macicy. Najwyższy odsetek remisji stwierdzono w grupie pacjentek z subklinikzną infekcją HPV (76.0%), następnie z CIN1 (52.0%), natomiast najniższy odsetek remisji obserwowano w grupie pacjentek z CIN2, w tej grupie stwierdzono również najwyższy odsetek progresji wynoszący 31.6%. Równocześnie w grupie pacjentek z subklinikzną infekcją HPV odsetek progresji wyniósł 12.0%, a w grupie kobiet z CIN1 18.0%. Istotnym wynikiem badania było stwierdzenie różnic w medianie ekspresji VEGF-C pomiędzy przypadkami progresji i regresji zmian przednowotworowych szyjki macicy w poszczególnych grupach pacjentek. W grupie pacjentek z subklinikzną infekcją HPV mediana ekspresji VEGF-C była istotnie wyższa w przypadkach, w których stwierdzono progresję zmian przednowotworowych w porównaniu do przypadków, w których nie obserwowano progresji (p<0.001). Podobne wyniki uzyskano porównując medianę ekspresji VEGF-C między przypadkami progresji oraz przypadkami bez progresji stanu nowotworowego w grupie pacjentek z CIN1 (p<0.001) oraz w CIN2 (p<0.001). Dodatkowo najwyższą ekspresję VEGF-C stwierdzono w nabłonku szyjki macicy pacjentek z rozpoznaniem CIN2 w porównaniu do nabłonka szyjki macicy pacjentek z CIN1 oraz subklinikzną infekcją HPV. Na podstawie wyników badań wnioskowano, że wysoka ekspresja VEGF-C może stanowić czynnik odpowiedzialny za progresję stanów przednowotworowych szyjki macicy.

W kolejnym badaniu oceniano wartość kliniczną i celowość połączenia kolposkopii oraz detekcji transkryptów onkogenów E6/E7 HPV w diagnostyce pogłębionej nieprawidłowych wyników przesiewowego badania cytologicznego w kierunku raka szyjki macicy. Do prospektywnego badania

obserwacyjnego włączono 85 pacjentek z nieprawidłowym wynikiem przesiewowego badania cytologicznego szyjki macicy. Stwierdzono wysoką, dodatnią korelację pomiędzy wynikiem kolposkopii a ostatecznym wynikiem histopatologicznym wycinków z szyjki macicy (Gamma=0.825;  $p<0.001$ ). Zastosowanie algorytmu diagnostycznego uwzględniającego wynik kolposkopii oraz genotypowania E6/E7 HPV zwiększyło dokładność diagnostyczną. Korelacja tej metody diagnostycznej z ostatecznym wynikiem histopatologicznym wycinków szyjki macicy wynosiła Gamma=0.947;  $p<0.001$  i była istotnie lepsza w porównaniu do samej kolposkopii ( $p<0.001$ ). Tak więc, uzupełnienie badania kolposkopowego u pacjentek z nieprawidłowym wynikiem przesiewowej cytologii szyjki macicy o oznaczenia transkryptów E6/E7 HPV wiąże się ze zwiększeniem dokładności diagnostycznej zmian przednowotworowych szyjki macicy.

Celem ostatniej pracy była analiza wartości klinicznej diagnostyki cytologicznej i kolposkopowej u pacjentek kwalifikowanych do zabiegu wycięcia strefy transformacji szyjki macicy przy pomocy pętli elektrycznej o wysokiej częstotliwości (Loop Electrosurgical Excision Procedure, LEEP). Do prospektywnego badania obserwacyjnego włączono 115 kobiet w wieku od 22 do 65 lat z rozpoznaniem cytologicznym zmian śród nabłonkowych dużego stopnia (High Grade Squamous Intraepithelial Lesion, HSIL). W obserwowanej kohorcie pacjentek w pooperacyjnym badaniu histopatologicznym u 1 (0.9%) kobiety nie stwierdzono żadnych zmian przednowotworowych szyjki macicy, CIN1 stwierdzono u 12 (10.4%), CIN2 u 22 (19.1%) oraz CIN3 u 78 (67.7%) pacjentek. W dwóch (1.8%) przypadkach rozpoznano raka szyjki macicy w stopniu zaawansowania klinicznego IA1. Potwierdzono wysoką dodatnią korelację pomiędzy wynikami cytologicznymi oraz kolposkopowymi a ostatecznym wynikiem badania histopatologicznego – dokładność diagnostyczna dla cytologii wyniosła 87%, dla kolposkopii 84,5%. Potwierdzono wysoką wartość kliniczną cytologii szyjki macicy oraz badania kolposkopowego w kwalifikacji pacjentek do procedury LEEP.

- Ludwin A, Ludwin I, Pityński K, Jach R, **Banas T**, Stangel-Wójcikiewicz K, Horbaczewska A, Pietrus M. Prevalence of HPV-DNA in Pap smears containing ASC and AGC performed within Population Programme of Prophylaxis and Early Detection of Early Cervical Cancer. *Przegł Lek.* 2012;69:1189-93.
- Jach R, Galarowicz B, Basta P, Basta A, Pityński K, Radoń-Pokracka M, **Banas T**. Rola mRNA HPV w diagnostyce zmian szyjki macicy. ss. 127-w: *Profilaktyka raka piersi i raka szyjki macicy Mierzwa T i Zagarski W (red); 2012 Bydgoszcz ISBN: 978-83-87528-2-25.*
- Jach R, Galarowicz B, Stangel-Wójcikiewicz K, **Banas T**, Streb J, Ludwin A, Ludwin I, Dyduch G. Cervical Intraepithelial Neoplasia-Predictive Molecular Growth Factors in Natural History. *Carcinogene Mutagene* 2013, S2-003.
- Galarowicz B, Jach R, Kędzierska J, Dyduch G, Zajac K, Pityński K, **Banas T**, Huras H, Streb J, Dulińska-Litewka J, Hosiawa V, Juszcak M, Milewicz T. The role of mRNA E6/E7 HPV expression in colposcopy of cervical neoplasia. *Przegł Lek.* 2012; 69: 651-657.
- Kabzińska-Turek M, Jach R, Ludwin A, Wiecheć M, **Banas T**, Stangel-Wójcikiewicz K, Knafel A, Horbaczewska A. The role of cytologic-colposcopic diagnostics in qualification to LEEP (loop electrical excision procedure). *Prz Lek.* 2016; 73: 472-478.

## (8) Analiza parametrów wpływających na bezpieczeństwo pacjenta

W pierwszej z cyklu prac analizujących parametry bezpieczeństwa pacjenta w polskim systemie ochrony zdrowia dokonano przeglądu literaturowego i analizy wskaźników oceny bezpieczeństwa pacjenta w zależności od zidentyfikowanych wymiarów ryzyka. Z ogólnej liczby 59 wskaźników pochodzących z różnych źródeł 21 uznano jako posiadające potencjalnie istotne w polskim systemie ochrony zdrowia i następnie zostały one omówione, ze szczególnym uwzględnieniem rekomendowanych przez Światową Organizację Zdrowia narzędzi dla oceny poprawy jakości i bezpieczeństwa w szpitalach rozwijanych w ramach projektu Performance Assessment Tool for Quality

Improvement in Hospitals (PATH). Opisano i analizowano również działania na rzecz wdrożenia systemu monitorowania bezpieczeństwa w ochronie zdrowia podjęte przez różne instytucje we współpracy z Centrum Monitorowania Jakości w Ochronie Zdrowia (CMJOZ).

W kolejnym artykule przedstawiono wyniki analizy organizacji pracy praktyk lekarzy rodzinnych w brytyjskim systemie ochrony zdrowia w aspekcie występowania zdarzeń niepożądanych oraz sposobów ich monitorowania i sprawozdawania. Jako narzędzia użyto autorskiego kwestionariusza składającego się z 22 pytań: 17 zamkniętych i 5 otwartych. Średnia populacja pacjentów objęta opieką jednej praktyki wynosiła 10237 (zakres: 5900-21000), a mediana zatrudnionych tam lekarzy 5,5 osoby (zakres: 2-11). Lekarz podstawowej opieki zdrowotnej w brytyjskim systemie ochrony zdrowia pełni funkcję „strażnika systemu” (ang. gate-keeper), który kieruje pacjenta do ambulatoryjnego leczenia specjalistycznego lub na hospitalizację. Co istotne lekarz podstawowej opieki zdrowotnej koordynuje proces diagnostyczno-terapeutyczny pacjentów. Zdarzenia niepożądane w brytyjskim systemie podstawowej opieki zdrowotnej występują rzadko i dotyczą głównie ordynacji leków. Istnieje sformalizowany system raportowania zdarzeń niepożądanych przez brytyjskich lekarzy rodzinnych.

Położnictwo i ginekologia jest dziedziną medycyny, w której zdarzenia niepożądane dotyczą zarówno pacjentek, jak również ich potomstwa, a krwotoki okołoporodowe należą do najniebezpieczniejszych zdarzeń niepożądanych w położnictwie. Analizie retrospektywnej poddano 15895 porodów, które odbyły się w Katedrze Ginekologii i Położnictwa Uniwersytetu Jagiellońskiego Collegium Medicum w Krakowie w okresie od stycznia 2003. roku do grudnia 2008. roku, z których 50.20% odbyło się przez cięcie cesarskie. W tym okresie wystąpiło 16 krwotoków okołoporodowych zdefiniowanych jako utratę ponad 0,5L krwi po porodzie siłami natury lub 1,0L krwi po cięciu cesarskim w trakcie porodu i do 24 godzin po porodzie. Częstość krwotoków okołoporodowych w analizowanym materiale wyniosła 1,01/1000 porodów i była istotnie wyższa po cięciach cesarskich w porównaniu do porodów siłami natury (86.0% vs. 14.0%;  $p < 0.001$ ). Jako przyczynę krwotoków okołoporodowych zidentyfikowano: atonię macicy ( $n=8$ , w sześciu przypadkach współistniejącą z łożyskiem przodującym), łożysko wrosnięte w mięsień macicy ( $n=5$ ), przedwczesne odklejenie łożyska prawidłowo usadowionego ( $n=1$ ), pęknięcie macicy ciężarnej ( $n=1$ ) oraz krwotok z pękniętego krocza ( $n=1$ ). W każdym przypadku wdrożone adekwatne postępowanie terapeutyczne zgodnie z rekomendacjami Polskiego Towarzystwa Ginekologicznego. W trzech przypadkach krwotok okołoporodowy był powikłany zespołem wykrzepiania wewnątrznaczyniowego (DIC), również w trzech przypadkach po wyczerpaniu wszystkich możliwości leczenia farmakologicznego konieczne było wykonanie okołoporodowego wycięcia macicy bez przydatków. Z powodu przedwczesnego odklejenia łożyska prawidłowo usadowionego doszło do jednego przypadku śródporodowego zgonu płodu, natomiast wszystkie pacjentki przeżyły krwotok okołoporodowy.

Do zdarzeń niepożądanych w położnictwie, które na szczęście są rzadkie, zaliczono również pęknięcie macicy ciężarnej w bliźnie po uprzedniej miomektomii laparoskopowej oraz krwotok dootrzewnowy spowodowany pęknięciem naczyniaka prawej tętnicy jajnikowej w drugiej dobie połogu po porodzie siłami natury, które to przypadki przedstawiono w pracach kazuistycznych. Kolejnym przykładem zdarzenia niepożądane w położnictwie była wewnątrzmaciczna śmierć bliźniąt w ciąży donoszonej, gdzie jako przyczynę zgonu rozpoznano zespół aortalno-żylny spowodowany nieprawidłową pozycją ciężarnej w trakcie snu.

W kolejnym retrospektywnym badaniu analizowano orzecznictwo sądów cywilnych w zakresie błędów medycznych na podstawie 183 spraw sądowych. Większość złożonych pozwów zawierała więcej niż jedną przyczynę powództwa. Najczęstszą przyczyną powództwa było zakażenie szpitalne (36.07%), następnie popełnienie błędu w trakcie zabiegu operacyjnego (35.52%) oraz brak należytej staranności w wykonywaniu świadczeń medycznych (31.15%). Spośród założonych spraw 48.09% zostało umorzonych w skutek nie stwierdzenia przez sąd wystąpienia błędu medycznego, ani zdarzenia niepożądane. Natomiast główne motywy wydanych wyroków były następujące: (1) brak dochowania

należytej staranności w trakcie udzielania świadczeń medycznych (20.0%), (2) zakażenie szpitalne (14.73%), oraz (3) naruszenie praw pacjenta (12.63%).

Problemy dotyczące występowania zdarzeń niepożądanych, jak również możliwości ich sprawozdawania, monitorowania i przeciwdziałania zostały omówione i podsumowane w pozycjach książkowych dotyczącej szeroko rozumianego bezpieczeństwa pacjenta oraz prowadzenia dokumentacji medycznej.

- **Banas T**, Mikos M. Bezpieczeństwo pacjenta i jego parametry. OPM 2007;4:63-65.
- Kijewski L, Haber M, **Banas T**. Przedstawienie funkcji praktyki lekarza rodzinnego w brytyjskim systemie ochrony zdrowia. Prob Med. Rodzinnej 2007;19:100-102.
- Reroń A, Jaworowski A, **Banaś T**, Ossowski P. Analiza częstości występowania ciężkich krwotoków okołoporodowych oraz metod ich leczenia w materiale Katedry Ginekologii i Położnictwa Collegium Medicum Uniwersytetu Jagiellońskiego. Przegl Gin Pol. 2009;9:139-144.
- **Banas T**, Godula Z, Herman R. Zespół aortalno-żylny jako próba wytłumaczenia nagłej śmierci wewnątrzmacicznej bliźniąt w ciąży donoszonej. Gin. Pol. 2004; 75: 633-637.
- **Banas T**, Klimek M, Fugiel A, Skotniczny K. Spontaneous uterine rupture at 35 weeks' gestation, 3 years after laparoscopic myomectomy, without signs of fetal distress. J Obstet Gynecol Res. 2005; 31: 527-530.
- **Banas T**, Boryczko M, Durzyńska-Urbaniak J. Krwotok do jamy brzusznej spowodowany pęknięciem tętnicy jajnikowej prawej w drugiej dobie połogu. Gin. Pol. 2004; 75: 729-732.
- **Banas T**, Filarski T, Mikos M, Pochopień P. Dokumentacja medyczna Wolter Kluwer Polska Sp. z o.o. 2012 Warszawa ss. 239 ISBN: 978-83-264-5198-0.
- Mikos M, Budzowska J, Juszczyk G, Czerw A, Banas T, Urbaniak M. Conclusions from the analysis of adverse events in the Polish health care system in judicial decisions of civil courts between 2011 and 2013. Pol Arch Intern Med. 2017; 127: 7–8.
- Rajs B, Pityński K, Ludwin A, **Banaś T**. Bezpieczeństwo pacjentki w położnictwie i ginekologii w: Bezpieczeństwo pacjenta red. Marcin Mikos. Wyd I. ZiZ Centrum Edukacji; Kraków 2017; ISBN: 978-83932788-8-6.

#### (9) Wartość kliniczna endoskopowych metod diagnostyki i leczenia łagodnych schorzeń trzonu macicy, w tym mięśniaków macicy i anatomicznych wad wrodzonych, w aspekcie uzyskanego efektu anatomicznego oraz prokreacyjnego.

Jako wykonawca uczestniczyłem w klinicznym projekcie badawczym, w którym analizowano wartość kliniczną histeroskopii diagnostycznej i operacyjnej w rozpoznawaniu i leczeniu wad oraz mięśniaków macicy.

Do prospektywnego badania klinicznego włączono 83 kobiety w wieku 20 – 38 lat, z rozpoznaniem nawracających poronień (zdefiniowanych jako co najmniej 3 poronienia w I trymestrze lub jedno poronienie w II i co najmniej jedno w I trymestrze ciąży), u których na podstawie wstępnej diagnostyki podejrzewano wadę macicy. U każdej z pacjentek wykonano histerosalpingografię (HSG), sonohisterografię (SHG) oraz histeroskopię diagnostyczną (DH) w ramach diagnostyki różnicowej nawracających poronień. Następnie wszystkie pacjentki wyraziły zgodę na histerolaparoskopię jako złoty standard diagnostyczny wad macicy. W badanej kohorcie w oparciu o wyniki histerolaparoskopii rozpoznano 17 przypadków macicy łukowatej, 45 przypadków macicy przegrodzonej, 12 przypadków macicy dwurożnej oraz 9 przypadków macicy o prawidłowej budowie. SHG charakteryzowała się najwyższą dokładnością diagnostyczną (92.5%) oraz bardzo wysoką, dodatnią korelacją rozpoznania wad macicy ( $R=0.873$ ;  $p<0.001$ ). Na podstawie uzyskanych wyników stwierdzono, że SHG jest metodą małoinwazyjną i posiada dużą wartość kliniczną w diagnostyce wad wrodzonych macicy.

W kolejnym prospektywnym badaniu klinicznym, do którego włączono 117 kobiet z podejrzeniem wady macicy oraz dodatnim wywiadem w kierunku niepłodności pierwotnej lub nawracających poronień, oceniano przydatność kliniczną: przezpochwowej ultrasonografii dwuwymiarowej (2D-TVS) i trójwymiarowej (3D-TVS) oraz dwuwymiarowej (2D-SHG) i trójwymiarowej sonohisterografii (3D-SHG). Podobnie jak w badaniu poprzednim za złoty standard diagnostyczny przyjęto histerolaparoskopię

na podstawie której w badanej grupie pacjentek rozpoznano 32 przypadki macicy łukowatej, 60 przypadków macicy przegrodzonej, 22 przypadki macicy dwurożnej oraz 12 macicy o prawidłowej budowie anatomicznej. Wykazano całkowitą dokładność diagnostyczną 3D-SHG w rozpoznawaniu wrodzonych wad macicy, która była istotnie wyższa w porównaniu do 2D-TVS, która jest szeroko wykorzystywana w diagnostyce ginekologicznej, a której dokładność diagnostyczna wykrywania wad wrodzonych macicy w badanej grupie wyniosła 77.8%. Dalsza analiza wykazała, iż pozostałe metody diagnostyczne cechowały się niższą dokładnością, i tak: dokładność diagnostyczna w rozpoznawaniu wad macicy dla 2D-SHG wyniosła 94.0% a dla 3D-TVS 97.4%, jednakże różnice te nie były statystycznie istotne.

Do następnego prospektywnego badania klinicznego zakwalifikowano 141 pacjentek, u których wykonano zabieg histeroskopowej metroplastyki (HM) z powodu przegrody macicy oraz poronień wczesnych lub niepłodności. Celem badania była ocena dokładności diagnostycznej trójwymiarowej sonohisterografii (3D-SHG) w porównaniu do ambulatoryjnej histeroskopii diagnostycznej (AHD) w ocenie kształtu macicy uzyskanym 6-8 tygodni po pierwotnym zabiegu HM, oraz analiza zgodności uzyskanych wyników 3D-SHG pomiędzy dwoma różnymi lekarzami oceniającymi wynik badania obrazowego (inter-rater agreement) jak również ocena zgodności wyników tego samego badania dokonywana przez jednego lekarza w odstępie czasu w sposób zaślepiony (intra-rater agreement). Tylko w 12.8% przypadków po HM nie udało się uzyskać optymalnego kształtu jamy macicy (stwierdzono zrosty wewnątrzjamowe lub obecność „fundal notch”). Metodę 3D-SHG charakteryzowała bardzo wysoka dokładność diagnostyczna (97.2%), czułość (97.0%) i specyficzność (100.0%). Nie stwierdzono istotnych różnic w ocenie kształtu jamy macicy pomiędzy 3D-SHG a AHD. Metoda 3D-SHG charakteryzowała się również wysoką zgodnością rozpoznań uzyskanych przez różnych obserwatorów ( $\kappa=0.79$ ), jak również tego samego obserwatora, po zaślepieniu wyników, w danym odstępie czasu ( $\kappa=0.78$ ). Na podstawie uzyskanych wyników stwierdzono wysoką przydatność metody 3D-SHG do oceny efektu histeroskopowej metroplastyki u kobiet z przegrodą macicy.

Kolejne dwie prace to listy do Redakcji Taiwanese Journal of Obstetrics and Gynecology oraz Redakcji Human Reproduction w których przedyskutowano, w oparciu o aktualne piśmiennictwo oraz wyniki własnych badań, najczęściej popełniane błędy w rozpoznawaniu wad macicy oraz zidentyfikowano możliwe trudności w postępowaniu się klasyfikacją wad macicy wprowadzoną przez Europejskie Towarzystwo Rozrodczości i Embriologii (European Society of Human Reproduction and Embryology, ESHRE). Na podstawie przeglądu piśmiennictwa oraz wyników własnych badań zapoczątkowano międzynarodową dyskusję dotyczącą systematyki wad macicy.

Celem następnego, prospektywnego badania kliniczno-kontrolnego była identyfikacja czynników, wpływających negatywnie na uzyskanie optymalnego kształtu jamy macicy po histeroskopowej metroplastyce z powodu przegrody. Do badania włączono 47 kobiet, którym w trakcie procedury operacyjnej podano do jamy macicy polisacharydowy środek przeciwzrostowy oraz 49 kobiet, którym nie podawano w/w środka i które stanowiły grupę kontrolną. Przy użyciu trójwymiarowej sonohisterografii przezpochwowej (3D-SHG) przedoperacyjnie oceniano szerokość i wysokość oraz pole powierzchni przegrody a śródoperacyjnie szerokość miometrium, a pooperacyjnie kształt jamy macicy oraz grubość miometrium. Z użyciem metod 3D-SHG oraz diagnostycznej histeroskopii ambulatoryjnej w okresie 6-8 tygodni od zabiegu histeroskopowego oceniano kształt jamy macicy oraz grubość miometrium. Wewnątrzjamowe zrosty pooperacyjne były znacznie rzadsze u pacjentek, u których zastosowano środek przeciwzrostowy w porównaniu z grupą kontrolną (4% vs. 23%). U pacjentek, u których nie stosowano środka przeciwzrostowego, szerokość przegrody oraz pole powierzchni przegrody stanowiły niezależne czynniki ryzyka powstania zrostów wewnątrzmacicznych po histeroskopowej metroplastyce. Na podstawie uzyskanych wyników stwierdzono, że pacjentki z szeroką przegrodą macicy, której pole powierzchni jest duże ( $>4.68\text{cm}^2$ ) odnoszą korzyść ze

śródooperacyjnego zastosowania środków przeciwrzostwych w trakcie zabiegu histeroskopowej metroplastyki.

Jedną z uznanych przyczyn pierwotnej jak i wtórnej niepłodności żeńskiej jest niedrożność jajowodów. Histerosalpingografia, jako metoda diagnostyczna stosowana w podejrzeniu niedrożności jajowodów, łączy się z podaniem kontrastu do jamy macicy i jajowodów oraz narażeniem pacjentek na promieniowanie jonizujące. W obserwacyjnym badaniu klinicznym oceniano wartość diagnostyczną histerosalpingosonografii z zastosowaniem pianki kontrastującej (HyFoSy) oraz histerosalpingosonografii wysokiej rozdzielczości z zastosowaniem obrazowania dopplerowskiego (HDF-HyFoSy) w porównaniu do przezpochwowej dwuwymiarowej histerosonografii z użyciem powietrza i soli fizjologicznej jako kontrastu (2D-air/saline-HyCoSy) w diagnostyce obrazowej podejrzenia niedrożności jajowodów. Do badania zakwalifikowano 132 pacjentki (259 jajowodów) z rozpoznaniem niepłodności pierwotnej i wtórnej oraz podejrzeniem niedrożności jajowodów. Jako diagnostyczną metodę referencyjną zastosowano laparoskopową ocenę drożności jajowodów, na podstawie której zidentyfikowano 18 (6.9%) niedrożnych jajowodów z 259 badanych. W oparciu o uzyskane wyniki stwierdzono, że 2D-air/saline-HyCoSy jest metodą o wystarczającej dokładności diagnostycznej w diagnostyce wstępnej pacjentek z podejrzeniem niedrożności jajowodów, jednakże wszystkie przypadki niediagnostyczne powinny być zweryfikowane z użyciem metody 2D/3D-HDF-HyFoSy, która charakteryzowała się istotnie wyższą dodatnią wartością predykcyjną (30.4% vs. 70.0%,  $p < 0.001$ ).

Mięśniaki stanowią najczęstszy nowotwór macicy i w Stanach Zjednoczonych Ameryki Północnej stanowią w 80% przypadków przyczynę histerektomii. Oprócz usunięcia macicy (lub trzonu macicy) leczenie operacyjne mięśniaków macicy obejmuje ich tradycyjne, laparoskopowe wyłuszczenie lub histeroskopową resekcję, w zależności od lokalizacji, wielkości, liczby mięśniaków, schorzeń współistniejących i preferencji pacjentki. Jedynym z przewidywalnych powikłań histeroskopowej resekcji mięśniaków jest perforacja macicy, szczególnie w przypadku ich dużych rozmiarów lub niekorzystnej lokalizacji. W prospektywnym badaniu kliniczno-kontrolnym obejmującym 120 pacjentek z objawowymi mięśniakami podśluzówkowymi i śródściennymi oceniano przydatność śródooperacyjnej ultrasonografii przezodbytnicznej (TRUS) w trakcie histeroskopowej miomektomii w aspekcie kompletności resekcji i bezpieczeństwa procedury. Stwierdzono istotnie wyższy wskaźnik kompletności zabiegu w grupie pacjentek, u których stosowano TRUS w porównaniu z grupą kontrolną bez stosowania TRUS (91% vs. 73%;  $p = 0.020$ ). Na podstawie regresji wieloczynnikowej wykazano iż średnica mięśniaka  $< 3$  cm oraz jego stopnie kliniczne 0 i 1 (wg klasyfikacji Europejskiego Towarzystwa Rozrodczości i Embriologii - European Society of Human Reproduction and Embryology, ESHRE), a także zastosowanie TRUS stanowiły niezależne czynniki powodzenia całkowitej histeroskopowej resekcji mięśniaka. W oparciu o uzyskane wyniki, uznano TRUS jako przydatną i bezpieczną metodę obrazowania u pacjentek poddawanych histeroskopowej resekcji mięśniaków macicy.

- Ludwin A, Ludwin I, **Banas T**, Knafel A, Miedzyblocki M, Basta A. Diagnostic accuracy of sonohysterography, hysterosalpingography and diagnostic hysteroscopy in diagnosis of arcuate, septate and bicornuate uterus. *J Obstet Gynaecol Res.* 2011; 37: 178-186.
- Ludwin A, Pityński K, Ludwin I, **Banas T**, Knafel A. Two- and three-dimensional ultrasonography and sonohysterography versus hysteroscopy with laparoscopy in the differential diagnosis of septate, bicornuate, and arcuate uteri. *JMIG* 2013; 366: 99199-9.
- Ludwin A, Ludwin I, Kudla M, Pitynski K, **Banas T**, Jach R, Knafel A. Diagnostic accuracy of three-dimensional sonohysterography compared with office hysteroscopy and its interrater/intrater agreement in uterine cavity assessment after imensional sonohysterography compared with office hysteroscopy and its interrater/intrater agreement in uterine cavity assessment after hysteroscopic metroplasty. *Fertil Steril.* 2014; 101: 1392-1399.
- Ludwin A, Ludwin I, Pitynski K, **Banas T**, Jach R. Differentiating between a double cervix or cervical duplication and a complete septate uterus with longitudinal vaginal septum. *Taiwan J Obstet Gynecol.* 2013; 52: 308-310.



- Ludwin A, Ludwin I, Pitynski K, Jach R, **Banas T**. Are the ESHRE/ESGE criteria of female genital anomalies for diagnosis of septate uterus appropriate? *Hum Reprod*. 2014; 29: 867-868.
- Ludwin A, Ludwin I, Pityński K, **Banas T**, Jach, R. Role of morphologic characteristics of the uterine septum in the prediction and prevention of abnormal healing outcomes after hysteroscopic metroplasty. *Hum Reprod*. 2014; 29: 1420-1423.
- Ludwin I, Ludwin A, Wiechec M, Nocun A, **Banas T**, Basta P, Pitynski K. Accuracy of hysterosalpingo-foam sonography in comparison to hysterosalpingo-contrast sonography with air/saline and to laparoscopy with dye. *Hum Reprod*. 2017; 10: 1-12.
- Ludwin A, Ludwin I, Pityński K, Basta P, Basta A, **Banas T**, Jach R, Wiechec M, Grabowska R, Stangel-Wójcikiewicz K, Milewicz T, Nocun A. Transrectal Ultrasound-Guided Hysteroscopic Myomectomy of Submucosal Myomas With a Varying Degree of Myometrial Penetration. *J Minim Invasive Gynecol*. 2013.

#### (10) Analiza zmian molekularnych w raku endometrium

Na podstawie obserwacji klinicznych Bokhman jako pierwszy wyróżnił dwa typy raków endometrium: estrogenozależny typ 1 o dobrym rokowaniu oraz typ 2 rozwijający się na podłożu endometrium atroficznego i gorzej rokujący. Późniejsze badania molekularne wykazała dalsze różnice w tych dwóch typach raków endometrium. Rak endometrium jest najczęstszym nowotworem złośliwym narządu rodowego w krajach rozwiniętych. Rak endometrium typu 1, ze względu na szybko występujące objawy kliniczne oraz biologię nowotworu, w 80% przypadków rozpoznawany jest we wczesnych etapach zaawansowania, co umożliwia całkowite wyleczenie. Przedmiotem prowadzonego projektu badawczego była ocena ekspresji białek SOX-2, Oct4 oraz gamma-glutamylotransferazy we wczesnych stadiach zaawansowania endometrioidalnego rak endometrium w odniesieniu do charakterystyki klinicznej i patomorfologicznej. Czynniki SOX-2 (Sex-determining region y (SRY)-Box2), który jest częścią rodziny czynników transkrypcyjnych, moduluje między innymi, podział, migrację i różnicowanie komórek macierzystych, natomiast białko Oct4 ( Octamer binding transcription factor 4) odgrywa istotną rolę w procesie odnowy embrionalnych komórek macierzystych poprzez regulację procesów proliferacji. Gamma glutamylotransferaza (GGT), jest białkiem błonowym, którego obecność stwierdzono w komórkach prawidłowego endometrium, a nadekspresję wykazano w wielu nowotworach złośliwych. Wysoki poziom GGTP wywiera działanie antyapoptotyczne w warunkach stresu oksydacyjnego, jak również bierze udział w mechanizmach powstawania chemiooporności. W prowadzonych badaniach stwierdzono ekspresję SOX-2 w 62/69 próbek tkankowych raka endometrioidalnego endometrium a ekspresję Oct4 w 46/69 (p=0.015). Najwyższą ekspresję SOX-2 wykazano w rakach niskozróżnicowanych w porównaniu do guzów wysoko- (p=0.008) i średniozróżnicowanych (p=0.002), równocześnie nie stwierdzono różnic w ekspresji Oct4 w zależności od stopnia zróżnicowania nowotworu. Dodatkowo, statystycznie istotną korelację pomiędzy ekspresją SOX-2 i Oct4 stwierdzano tylko w rakach wysokozróżnicowanych (R: 0.51; p = 0.031), ponadto wykazano dodatnią korelację pomiędzy poziomem ekspresji SOX-2, a wiekiem, w którym wystąpił nowotwór (R = 0.193; p = 0.003).

W drugim badaniu, które obejmowało 98 przypadków raka endometrioidalnego endometrium u kobiet po menopauzie oraz 60 przypadków prawidłowego endometrium atroficznego potwierdzono dominującą błonową ekspresję GGT we wszystkich badanych próbkach w porównaniu do ekspresji cytoplazmatycznej. Raki niskozróżnicowane wykazywały istotnie niższą ekspresję GGT w porównaniu do nowotworów wysoko- i średniozróżnicowanych (p<0.001) oraz do endometrium kontrolnego (p<0.001). Stwierdzono również istotne różnice w ekspresji GGT w zależności od stopnia klinicznego zaawansowania nowotworu wg klasyfikacji Międzynarodowej Federacja Ginekologii i Położnictwa (Fédération internationale de gynécologie et d'obstétrique; FIGO), przy czym najwyższa ekspresja GGT była w stopniu IA, najniższa w stopniu II, a pośrednia w stopniach IB oraz IIIA-C zaawansowania klinicznego. Zaburzona ekspresja GGT oraz nadekspresja SOX-2 odgrywają ważną rolę w procesach proliferacji raka endometrioidalnego endometrium i wymagają dalszych badań celem ustalenia ich potencjalnej przydatności klinicznej w systemach oceny ryzyka zajęcia węzłów chłonnych oraz ryzyka wznowy procesu nowotworowego.

- Pityński K, **Banas T**, Pietrus M, Milian-Ciesielska K, Ludwin A, Okon K. SOX-2, but not Oct4, is highly expressed in early-stage endometrial adenocarcinoma and is related to tumour grading. *Int J Clin Exp Pathol.* 2015; 8: 8189-98.
- Pityński K, Ozimek T, Galuszka N, **Banas T**, Milian-Ciesielska K, Pietrus M, Okon K, Mikos M, Juszczak G, Sińczak-Kuta A, Stój A. Association of the immunohistochemical detection of gamma-glutamyl transferase expression with clinicopathological findings in postmenopausal women with endometrioid adenocarcinoma of the uterus. *J Pharmacol Physiol.* 2016; 67: 395-402.

### (11) Epidemiologia nowotworów złośliwych sromu i pochwy w Polsce

W oparciu o dane Krajowego Rejestru Nowotworów wykonano analizę trendów zapadalności oraz przeżywalności na nowotwory złośliwe pochwy i sromu w populacji polskich kobiet. Krajowy Rejestr Nowotworów archiwizuje dane dotyczące zapadalności oraz umieralności z powodu nowotworów złośliwych w Polsce na podstawie obligatoryjnej sprawozdawczości podmiotów prowadzących działalność medyczną. W analizie danych epidemiologicznych wykorzystano liczby bezwzględnie zapadalności i umieralności na poszczególne nowotwory złośliwe oraz roczne standaryzowane dla populacji światowej współczynniki zapadalności ( $Z_{ASR}$ ) i umieralności ( $U_{ASR}$ ), natomiast do oceny trendów zapadalności i umieralności wykorzystano średnioroczną zmianę procentową (annual average percentage change, AAPC). Dodatkową analizę trendów przeprowadzono w pięcioletnich grupach wiekowych. W badaniu dotyczącym zachorowalności oraz zapadalności na nowotwory złośliwe sromu i pochwy w latach 1999-2013 stwierdziliśmy 5958 przypadków zachorowalności na raka sromu oraz 1288 nowych raków pochwy, równocześnie w w/w okresie odnotowano 3172 zgony z powodu raka sromu oraz 889 zgodny z powodu raka pochwy. W okresie objętym badaniem  $Z_{ASR}$  na raka sromu wynosił od 0.99 – 1.19, na a raka pochwy 0.42-0.56, natomiast  $U_{ASR}$  na raka sromu wyniósł 0.39-0.56, a na raka pochwy 0.09 – 0.20. W czternastoletnim okresie, który był objęty badaniem stwierdzono istotne zmniejszenie trendu zapadalności na raka sromu (AAPC=-0.78;  $p<0.05$ ), przy równoczesnym wzroście umieralności (AAPC=0.72;  $p>0.05$ ), który był jednak statystycznie nieistotny. Dla raka pochwy stwierdzono nieistotne statystycznie obniżenie zapadalności (AAPC=-1.67;  $p>0.05$ ) przy równoczesnym istotnym zmniejszeniu umieralności (AAPC=-4.69;  $p<0.05$ ). Dalsza szczegółowa analiza wykazała, iż zmniejszenie zapadalności na raka sromu dotyczyło przede wszystkim kobiet poniżej 55. roku życia, jednakże u pacjentek we wszystkich grupach wiekowych obserwowano wzrost trendu umieralności. W przypadku raka pochwy zmniejszenie zapadalności stwierdzono przede wszystkim u pacjentek w wieku 65 lat i więcej, natomiast we wszystkich grupach wiekowych obserwowano obniżenie trendów umieralności z powodu tego nowotworu złośliwego.

- **Banas T**, Pityński K, Jach R, Knafel A, Ludwin A, Juszczak G, Nieweglowska D. Primary vulvo-vaginal cancers: trends in incidence and mortality in Poland (1999-2012). *Gynecol Obstet Invest.* 2015; 80: 240-245.

Dużą część wyników prowadzonych przeze mnie badań została wygłoszona w formie referatów lub prezentacji na krajowych i międzynarodowych kongresach i konferencjach naukowych. Łącznie wygłosiłem lub współuczestniczyłem w przygotowaniu 27 poniższych referatów i prezentacji:

- Wicherek Ł, Klimek M, Popiela TJ, Dutsch-Wicherek M, **Banaś T**, Wnęk M. Placental RCAS1 expression changes during spontaneous beginning of the labor in the context of dNK activity. *Septiemes Journees Europeennes de la Societe Francaise de Gynecologie.* October 7<sup>th</sup> – 9<sup>th</sup> Paris, France: 159-169.
- Wicherek Ł, Mak P, Klimek M, **Banaś T**. Length of menstrual bleeding period and risk of urogenital infections in the context of antimicrobial peptides generated from hemoglobin. *Septiemes Journees Europeennes de la Societe Francaise de Gynecologie.* October 7<sup>th</sup> – 9<sup>th</sup> Paris, France: 151-152.
- Klimek M, **Banaś T**, Wicherek Ł, Skotniczy K. Immunological activity in ovarian tissue. *12<sup>th</sup> World Congress on Human Reproduction.* Venice, Italy, March 10-13, 2005.

- Klimek M, Wicherek Ł, **Banaś T**, Gałązka K, Migdał M, Kulczycka M, Dutsch-Wicherek M. Comparative analysis of DFF45 expression in eutopic and ectopic endometrium. 7th World Congress on Controversies in Obstetrics, Gynecology and Infertility. Athens. Greece. 14<sup>th</sup> – 17<sup>th</sup> April 2005.
- **Banaś T**, Wicherek Ł, Klimek M, Skotniczny K, Migdał M, Homa T. DFF45 level In ovarian simple cysts compared with normal ovarian tissue. Central European Journal of Immunology. 2005, 30; suppl 1: 2-3. Abstract. 12<sup>th</sup> Congress of Polish Society of Clinical and Experimental Immunology. Lublin. Poland 19<sup>th</sup> – 22<sup>nd</sup> May 2005.
- **Banaś T**, Malinowska-Cieślak M. Ocena związku behawioralnych czynników ryzyka rozwoju osteoporozy z gęstością mineralną kości u kobiet. Międzynarodowa Konferencja Naukowa „Między zdrowiem a chorobą. Konteksty społeczne i ekonomiczne.” Zakopane 13 – 15 maj 2005.
- **Banaś T**, Malinowska-Cieślak M, Banaś B. Analiza porównawcza wartości wskaźnika masy ciała i wieku wystąpienia menopauzy jako czynników ryzyka rozwoju osteoporozy pomenopauzalnej u kobiet zamieszkałych w środowisku miejskim oraz wiejskim. Medycyna Środowiskowa 2005, 8; supl. 1: 31.
- **Banaś T**, Haber M, Kycia J. Menstruacja a infekcje urogenitalne kobiet w praktyce lekarzy podstawowej opieki zdrowotnej. Prob Med. Rodzinnej 2007;19:129-131.
- Kijewski L, Haber M, **Banaś T**. Przedstawienie funkcji praktyki lekarza rodzinnego w brytyjskim systemie ochrony zdrowia. Prob Med. Rodzinnej 2007;19:100-102.
- **Banaś T**, Wicherek L, Klimek M, Kulczycka M, Mikos M, Kotela I. DFF45 in eutopic endometrium of postmenopausal women – preliminary report. J Physiol Pharmaol. 2007;58 (suppl 4): 36.
- **Banaś T**, Hajdyła I, Batko B, Bhattari N, Skura A. Factors influencing the choice of contraception method in women suffering from rheumatic arthritis treated with leflunomide. Reumatologia 2008; 4, Supp. 2: 139.
- **Banaś T**, Hajdyła I, Batko B, Bhattari N, Skura A. Use of contraception among women suffering from rheumatic arthritis and treated with leflunomide. Reumatologia 2008; 4, Supp. 2: 140.
- Ludwin, I. Ludwin, P. Basta, A. Knafel, **T. Banaś**, A. Basta. Sonohysterography with constant infusion pressure vs traditional evaluation methods of submucous myomas in their classification (ESH, STEP-W) and qualification to hysteroscopic myomectomy. Gynecol Surg. 2009; 6 (Suppl 1):S173
- Ludwin, I. Ludwin, **T. Banaś**, A. Knafel, M. Międzybłocka, A Basta. The diagnostic value of SHG, HSG and outpatient hysteroscopy in differential diagnosis of Mullerian duct anomalies: uterine septum, bicornuate and arcuate uterus. Gynecol Surg 2009; 6 (Suppl 1): S76
- Ludwin, I. Ludwin, P. Basta, A. Knafel, **T. Banas**, A. Basta. The qualification of myomas to hysteroscopicmyomectomy by using the sonohysterography with constant infusion pressure (SHG-CP), Gynecol Surg. 2010; 7 (Suppl 1): S103.
- Ludwin, I. Ludwin, A. Knafel, **T. Banas**, P. Basta. 3D sonohysterography in differential diagnosis of septate, bicornuate and arcuate uterus. Gynecol Surg 2010; 7 (Suppl 1): S76
- Banaś-Hajdyła I, Batko B, Krężelok M, Chrznowska A, **Banaś T**. Ocena stosowania wskazań lekarskich dotyczących przyjmowania leków modyfikujących przebieg choroby przez pacjentów leczonych z powodu reumatoidalnego zapalenia stawów. Reumatologia 2012; 50: S113. (suplement 1).
- Hajdyła-Banaś I, **Banaś T**, Batko B. porównanie obiektywnej i subiektywnej odpowiedzi na leczenie leflunomidem pacjentów z reumatoidalnym zapaleniem stawów. Reumatologia 2012; 50: S76. (suplement 1).
- **Knafel A, Nocun, A, Banas T**, Wiechec M, Jach R, Pietrus M, Pityński K. IOTA simple ultrasound-based rules; why do we inconclusive results? Int J Gynecol Cancer. 2013; 28: sue: 8 Supp 1. .
- Mika M, Basta A, Jach, R, **Banas, T**. Results of ovarian cancer treatment in Gynecology and Oncology Clinic of the Jagiellonian University Collegium Medicum in 1998-2008. Int J Gynecol Cancer. 2013; 28: sue: 8 Supp 1. .
- **Banaś T**, Pityński K, Jach R, Knafel A, Ludwin A, Juszczak G, Niewęglowska D, Pietrus M. Pierwotny rak sromu: częstość występowania i śmiertelność w Polsce (1999-2010). IV Kongres Polskiego Towarzystwa Ginekologii Onkologicznej; Kraków 22-25.10.2014r.
- Pityński K, Sporek A, Lipińska I, **Banaś T**, Ludwin A, Bałajewicz-Nowak M, Pietrus M. Ocena poziomu progesteronu jako dodatkowy czynnik w algorytmie oceny ryzyka raka jajnika (ROMA) wpływający na poprawę diagnostyki różnicowej u kobiet przed menopauzą. IV Kongres Polskiego Towarzystwa Ginekologii Onkologicznej; Kraków 22-25.10.2014r.
- Nocun A, Wiechec M, Pietrus M, **Banaś T**, Bałajewicz-Nowak M, Pityński K. Zastosowanie ultrasonografii dwuwymiarowej 2D i objętościowej 3D w przedoperacyjnej ocenie stopnia zaawansowania raka błony śluzowej trzonu macicy. IV Kongres Polskiego Towarzystwa Ginekologii Onkologicznej; Kraków 22-25.10.2014r.
- Stój A, Pityński K, Okoń K, Adamek D, Oplawski M, **Banaś T**, Bałajewicz-Nowak M, Pietrus M. Ekspresja genu GAPDH w zaawansowanym raku jajnika. IV Kongres Polskiego Towarzystwa Ginekologii Onkologicznej; Kraków 22-25.10.2014r.
- Ozimek T, Gałązka N, Kopeć M, Pniak A, Milian-Ciesielska K, Pietrus M, Pityński K, **Banaś T**. Ekspresja gamma-glutamylotransferazy (GGT) w endometrialnym raku endometrium. ). IV Kongres Polskiego Towarzystwa Ginekologii Onkologicznej; Kraków 22-25.10.2014r.

- Pityński K, **Banaś T**, Pietrus M, Bałajewicz-Nowak M, Milian-Ciesielska K, Okoń K. Ekspresja markerów komórek macierzystych Sox-3 i Oct4 w raku endometrium. IV Kongres Polskiego Towarzystwa Ginekologii Onkologicznej; Kraków 22-25.10.2014r.
- Ozimek T, Galuszka N, Milian-Ciesielska K, **Banaś T**, Pietrus M, Okon K, Mikos M, Juszczak G, Pitynski K. U kobiet po menopauzie ekspresja Gamma-glutamyl transferazy (GGT) w raku endometrioidalnym endometrium (ECC) maleje w rakach nisko zróżnicowanych i zaawansowanych klinicznie. Międzynarodowa konferencja naukowo-szkoleniowa: „Innowacyjność w kształceniu, praktyce pielęgniarstwa i badaniach naukowych. 90-lecie powstania Uniwersyteckiej Szkoły Pielęgniarek i Opiekunek Zdrowia w Krakowie” 11-12 września 2015; Kraków, Polska.

### c) recenzje w czasopismach naukowych

Pełniłem funkcje recenzenta w następujących czasopismach na zaproszenie ich redakcji

- Archives of Medical Science [IF: 1,969]
- European Journal of Obstetrics, Gynecology and Reproductive Biology [IF: 1,666]
- Journal of Obstetrical and Gynecological Research [IF: 0.94]
- Gynecologic and Obstetrics Investigation [IF: 1,415]
- OncoTarget and Therapy [IF: 2,612]
- Journal of Clinical Medicine and Research
- Current Gynecologic Oncology

### d) udział w krajowych i międzynarodowych projektach badawczych

Byłem kierownikiem i wykonawcą następujących projektów finansowanych funduszy Komitetu Badań Naukowych oraz z funduszy rozwojowych Unii Europejskiej, jak również z dotacji Uniwersytetu Jagiellońskiego Collegium Medicum na utrzymanie potencjału badawczego oraz dotacji na rozwój młodych naukowców:

- Akademicka Innowacyjność dla Małopolski – program stypendialny dla najlepszych doktorantów UJ.– Program rozwojowy Urzędu Marszałkowskiego Województwa Małopolskiego dla Młodych Naukowców - projekt: „Infekcje urogenitalne kobiet.”
- Grant promotorski Komitetu Badań Naukowych - projekt: „Wartość kliniczna oceny ekspresji białka DFF45 w endometriozie jajnika” – wykonawca. Ze względu na złożenie rozprawy doktorskiej grant został przyznany, lecz nie był realizowany.
- Badania własne nr K/ZBW/000422 – projekt: „Ocena wybranych białek uczestniczących w szlakach apoptozy w prawidłowym endometrium, endometrium kobiet z endometriozą oraz w ogniskach endometriozы.”
- Badania własne nr K/DSC/001384 - projekt: „Ocena wybranych białek uczestniczących w szlakach apoptozy w hiperplazji endometrium, w raku endometrioidalnym endometrium oraz w endometrium prawidłowym.”
- Badania statutowe nr K/ZDS/006234 – projekt: „Porównanie przedoperacyjnej i pooperacyjnej uogólnionej odpowiedzi zapalnej (SIR) u pacjentek z rakiem endometrium typu 1 i typu 2 - analiza wpływu SIR na osiągnięty wynik terapeutyczny.”

### e) nagrody i wyróżnienia

- III Nagroda Polskiego Towarzystwa Reumatologicznego za tematyczną publikację naukową: „Analiza skuteczności i bezpieczeństwa terapii leflunomidem w zależności od wieku

pacjentów i czasu trwania reumatoidalnego zapalenia stawów” (Autorzy: Hajdyła I, Skura A, Banaś T, Batko B. Reumatologia 2007;45:11-17).

- Wyróżnienie za prezentację „Analiza porównawcza wartości wskaźnika masy ciała i wieku wystąpienia menopauzy jako czynników ryzyka rozwoju osteoporozy pomenopauzalnej u kobiet zamieszkałych w środowisku miejskim oraz wiejskim” (Autorzy Banaś T, Malinowska-Cieślik M, Banaś B) VII Krajowa Konferencja Naukowa Pozycja człowieka w ekosystemie – współodpowiedzialność za zmniejszanie ryzyka, Kraków 2005.

#### **f) osiągnięcia dydaktyczne i popularyzujące naukę**

Do moich obowiązków dydaktycznych należało koordynowanie odbywających się w Katedrze zajęć położnictwa i ginekologii dla studentów trzeciego roku kierunku lekarsko-stomatologicznego Wydziału Lekarskiego. Prowadzę seminaria, ćwiczenia oraz biorę udział w przygotowywaniu zaliczeń testowych dla studentów trzeciego, czwartego, piątego i szóstego roku Wydziału Lekarskiego. Równolegle prowadzę wykłady, seminaria i ćwiczenia z ginekologii onkologicznej dla studentów sześcioletniego programu studiów Szkoły Medycznej dla Obcokrajowców.

Byłem kierownikiem i wykładowcą podczas następujących kursów specjalizacyjnych i doskonalących lekarzy specjalizujących się w położnictwie i ginekologii oraz ginekologii onkologicznej finansowanych w ramach programu: „Kapitał Ludzki Narodowa Strategia Spójności – Kształcenie w ramach procesu specjalizacji lekarzy deficytowych specjalności tj. onkologów, kardiologów i lekarzy medycyny pracy.”:

- *Wprowadzenie do specjalizacji w ginekologii onkologicznej* – kierownik administracyjny kursu i wykładowca
- *Ginekologia onkologiczna – kurs atestacyjny* – kierownik administracyjny kursu i wykładowca
- *Nowotwory trzonu macicy* – kierownik administracyjny kursu i wykładowca
- *Wprowadzenie do specjalizacji w położnictwie i ginekologii* – wykładowca
- *Stany naglące i krwotoki w położnictwie i ginekologii* – wykładowca
- *Promocja zdrowia w położnictwie i ginekologii* – wykładowca

Sprawuję opiekę nad studentami zagranicznymi i stażystami odbywającymi praktyki kliniczne w Klinice Ginekologii i Onkologii Katedry Ginekologii i Położnictwa Uniwersytetu Jagiellońskiego Collegium Medicum w Krakowie. Jestem również opiekunem Studenckiego Koła Naukowego działającego w ramach Kliniki Ginekologii i Onkologii Katedry Ginekologii i Położnictwa Uniwersytetu Jagiellońskiego Collegium Medicum w Krakowie.

W kadencji 2015-2018 byłem sekretarzem Oddziału Małopolskiego Polskiego Towarzystwa Ginekologów i Położników i współuczestniczę w organizacji comiesięcznych spotkań naukowych Oddziału adresowanych do specjalistów w dziedzinie położnictwa i ginekologii, neonatologii oraz ginekologii onkologicznej z województwa małopolskiego, a także lekarzy w trakcie w/w specjalizacji oraz doktorantów, lekarzy stażystów i studentów Wydziału lekarskiego.

Jestem kierownikiem jednej specjalizacji w dziedzinie położnictwa i ginekologii.

Jestem członkiem komitetu redakcyjnego czasopisma naukowego w dziedzinie ginekologii onkologicznej „Current Gynecologic Oncology”.

Regularnie uczestniczę jako wykładowca i/lub moderator sesji w cyklicznych konferencjach naukowych organizowanych przez Fundację Urszuli Smok „Podaruj Życie” pod auspicjami Uniwersytetu Jagiellońskiego, a które są adresowane nie tylko do profesjonalistów w dziedzinie medycyny i ochrony zdrowia lecz przede wszystkim do pacjentów i mają na celu poszerzenie ich wiedzy na temat onkologii.

### **g) działalność organizacyjna**

W trakcie studiów medycznych byłem Starostą Roku, członkiem Samorządu Studentów Uniwersytetu Jagiellońskiego, a także reprezentantem studentów w Radzie Wydziału Lekarskiego Uniwersytetu Jagiellońskiego. Byłem aktywnym członkiem Studenckiego Koła Naukowego przy Katedrze Ginekologii Położnictwa Uniwersytetu Jagiellońskiego, jak również członkiem komitetów organizacyjnych następujących kongresów i zjazdów naukowych:

- Międzynarodowy kongres Rak Jajnika, 2008 Kraków – członek Komitetu Organizacyjnego
- Polsko-Niemiecki Kongres „Nowe perspektywy w diagnostyce i leczeniu niektórych schorzeń ginekologiczno-onkologicznych”, 2011 Kraków – członek Komitetu Organizacyjnego
- IV Kongres Polskiego Towarzystwa Ginekologii Onkologicznej, 2014 Kraków – członek Komitetu Organizacyjnego

Handwritten signature of Tomasz Banas in blue ink.