

## Autoreferat

### 1. Imię i Nazwisko.

#### **RAFAŁ MOSZYŃSKI**

Urodziłem się 18 czerwca 1973 roku w Poznaniu. Moi rodzice są nauczycielami. Szkołę podstawową ukończyłem w Suchym Lesie. Świadectwo maturalne uzyskałem po ukończeniu Liceum Ogólnokształcącego nr VIII im. Adama Mickiewicza w Poznaniu w roku 1992. W tym też roku rozpocząłem studia na Wydziale Lekarskim I Akademii Medycznej im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu. W czasie studiów pełniłem funkcję Starosty Roku i ukończyłem edukację ze średnią ocen 4,5. 7 września 1996 roku zawarłem związek małżeński z Moniką Obara, obecnie adiunktem pracującym w Klinice Endokrynologii i Reumatologii Dziecięcej Uniwersytetu Medycznego w Poznaniu. Mam jedną córkę Martę, która urodziła się 2 stycznia 1999 roku.

### 2. Posiadane dyplomy, stopnie naukowe/ artystyczne – z podaniem nazwy, miejsca i roku ich uzyskania oraz tytułu rozprawy doktorskiej.

Dyplom lekarza medycyny otrzymałem w roku 1998.

- 1992–1998 Akademia Medyczna im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu, Absolwent Wydziału Lekarskiego I

Staż podyplomowy, jak również cała moja dotychczasowa praca zawodowa związana jest z Ginekologiczno-Położniczym Szpitalem Klinicznym Uniwersytetu Medycznego im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu. Pracę rozpocząłem w roku 1999 w ramach stypendium doktoranckiego.

- 15 stycznia 2003 roku uzyskałem tytuł doktora nauk medycznych na podstawie rozprawy pt.:  
**„Ocena przydatności teorii zbiorów przybliżonych w diagnostyce guzów jajnika”,**

której promotorem był prof. dr hab. Stefan Sajdak. Tytuł doktora nauk medycznych został nadany przez Radę Wydziału Lekarskiego I Akademii Medycznej im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu.

Dalsze zatrudnienie w charakterze młodszego a później starszego asystenta miało miejsce również w Klinice Ginekologii Operacyjnej GPSK UM w Poznaniu pod kierownictwem prof. Stefana Sajdaka.

- 26 października 2006 r. uzyskałem specjalizację w dziedzinie położnictwa i ginekologii - Centrum Medyczne Kształcenia Podyplomowego w Warszawie
- 16 kwietnia 2012 r. – rozpocząłem specjalizację w dziedzinie ginekologii onkologicznej

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

W czasie studiów byłem aktywnym członkiem Koła Naukowego przy Instytucie Ginekologii i Położnictwa Akademii Medycznej w Poznaniu.

Cała moja dotychczasowa praca zawodowa związana jest z Kliniką Ginekologii Operacyjnej Ginekologiczno-Położniczego Szpitala Klinicznego Uniwersytetu Medycznego im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu.

- 1998-1999 r.- staż podyplomowy, GPSK UM Poznań
- od 1 lipca 1999 r. do 15 stycznia 2003. - Ginekologiczno-Położniczy Szpital Kliniczny Uniwersytetu Medycznego im. K. Marcinkowskiego w Poznaniu; Klinika Ginekologii Operacyjnej UM w Poznaniu – stypendium doktoranckie
- od 1 maja 2003 r. zatrudniony jako asystent w Klinice Ginekologii Operacyjnej Uniwersytetu Medycznego im. K. Marcinkowskiego w Poznaniu
- od 1 lipca 2009 r. mianowany na stanowisko adiunkta w Klinice Ginekologii Operacyjnej Uniwersytetu Medycznego im. K. Marcinkowskiego w Poznaniu
- od 1 października 2011 pełnię funkcję zastępcy kierownika Kliniki Ginekologii Operacyjnej GPSK UM w Poznaniu

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

a) tytuł osiągnięcia naukowego/artystycznego,

**MOŻLIWOŚCI DIAGNOSTYCZNE KLASYFIKACJI ZMIAN ROZROSTOWYCH JAJNIKA NA PODSTAWIE  
ULTRASONOGRAFICZNEJ OCENY MORFOLOGICZNEJ I DOPPLEROWSKIEJ, MARKERÓW  
BIOCHEMICZNYCH I ANGIOGENEZY ORAZ MATEMATYCZNYCH MODELI PROGNOSTYCZNYCH.**

WYDAWNICTWO NAUKOWE UNIWERSYTETU MEDYCZNEGO IM. KAROLA MARCINKOWSKIEGO W  
POZNANIU

ISBN 978-83-7597-245-0

2014

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

1. **Moszyński R**, Szpurek D, Stanek J, Sibila-Owczarska A, Sajdak S. Porównanie wartości diagnostycznej sześciu ultrasonograficznych skal morfologicznej oceny guzów jajnika. Prz. Ginek. Położ. 2004;4(2):65-69 Punktacja Min. Nauki: 3.0
2. **Moszyński R**, Szpurek D, Pawlak M, Golon M, Sajdak S. Wpływ typu histopatologicznego guza jajnika na wartości prognostyczne ultrasonograficznego indeksu morfologicznego. Ginek. Pol. 2006;77,7:516-22 Punktacja Min. Nauki: 5.0
3. **Moszyński R**, Szpurek D, Szubert S, Sajdak S. Analysis of false negative results of subjective ultrasonography assessment of adnexal masses. Ginek. Pol. 2013; 84(02):102-107 Impact Factor: 0.675 Punktacja Min. Nauki: 15.0
4. **Moszyński R**, Szpurek D, Smoleń A, Sajdak S Comparison of diagnostic usefulness of predictive models in preliminary differentiation of adnexal masses. Int. J. Gynecol. Cancer 2006 Vol. 16 nr 1 s. 45-51 Impact Factor: 1.469 Punktacja Min. Nauki: 15.0
5. **Moszyński R**, Szpurek D, Michalak S, Szubert S, Krygowska J, Sajdak S. Ocena stężenia bFGF w surowicy krwi kobiet z guzami złośliwymi i niezłośliwymi jajnika. Curr. Gynecol. Oncol. [d. Ginek. Onkol.] 2009;7(3):199-205 Punktacja Min. Nauki: 6.0
6. **Moszyński R**, Szpurek D, Michalak S, Szubert S, Sajdak S. The role of endothelin-1 and its correlation with CA 125 levels, grayscale ultrasonography and Doppler findings in differential diagnoses of ovarian tumors. Eur. J. Gynaecol. Oncol. 2009;30:552-556 Impact Factor: 0.614 Punktacja Min. Nauki: 13.0
7. **Moszyński R**, Szubert S, Szpurek D, Michalak S, Krygowska J, Sajdak S Usefulness of the HE4 biomarker as a second-line test in the assessment of suspicious ovarian tumors Arch Gynecol Obstet. 2013 May 31. (2013) 288:1377–1383 DOI 10.1007/s00404-013-2901-1 Impact Factor: 1.279 Punktacja Min. Nauki: 20.0

Całkowity Impact Factor cyklu prac: **4.037** Punktacja Min. Nauki **77**

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

## Wykaz skrótów

|         |                                                                                                                                 |
|---------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| bFGF    | – ang. <i>basic fibroblast growth factor</i> – zasadowy czynnik wzrostu fibroblastów                                            |
| ET-1    | – endotelina-1                                                                                                                  |
| GI-RADS | – ang. <i>Gynecologic Imaging Reporting and Data System</i> – system raportowania ultrasonograficznych obrazów ginekologicznych |
| HE4     | – ang. <i>human epididymal secretory protein E4–marker</i> – czwarta podfrakcja ludzkiego białka komórek najądrza               |
| IL      | – interleukina                                                                                                                  |
| IOTA    | – ang. <i>International Ovarian Tumor Analysis Group</i> – międzynarodowa grupa analizy guzów jajnika                           |
| MEDV    | – ang. <i>maximal end-diastolic velocity</i> – maksymalna prędkość późnorozkurczowa przepływu krwi                              |
| MMP     | – metaloproteinaza                                                                                                              |
| MVD     | – ang. <i>microvessel density</i> – gęstości mikronaczyń                                                                        |
| NRI     | – ang. <i>net reclassification improvement</i>                                                                                  |
| OPN     | – osteopontyna                                                                                                                  |
| PI      | – ang. <i>pulsatility index</i> – wskaźnik pulsacji                                                                             |
| PROCA   | – ang. <i>predicting ovarian cancer</i> – prognozowanie raka jajnika                                                            |
| PSV     | – ang. <i>peak systoli velocity</i> – maksymalna prędkość przepływu w czasie skurczu                                            |
| RI      | – ang. <i>resistance index</i> – wskaźnik oporu przepływu krwi                                                                  |
| RMI     | – ang. <i>risk of malignancy index</i> – wskaźnik ryzyka złośliwości                                                            |
| ROC     | – ang. <i>receiver operating characteristic</i>                                                                                 |
| ROMA    | – ang. <i>risk of ovarian malignancy algorithm</i> – algorytm ryzyka złośliwości guzów jajnika                                  |
| SD      | – skala dopplerowska                                                                                                            |
| SM      | – skala morfologiczna                                                                                                           |
| TAMXV   | – ang. <i>time-averaged maximum velocity</i> – średnia maksymalna prędkość przepływu krwi w jednym cyklu                        |
| TGF     | – ang. <i>transforming growth factor</i> – transformujący czynnik wzrostu                                                       |
| VEGF    | – ang. <i>vascular endothelial growth factor</i> – naczyniowo-śródbłonkowy czynnik wzrostu naczyń                               |

# 1. WSTĘP

## 1.1. Wprowadzenie

Guzy przydatków, pomimo olbrzymiego postępu, jaki dokonuje się we współczesnej medycynie, stanowią nadal istotny ginekologiczny problem diagnostyczny i terapeutyczny. Zarówno nowotwory złośliwe, z ich najpoważniejszym przedstawicielem, jakim jest rak jajnika, jak i zmiany niezłośliwe wymagają prawidłowej, skutecznej i sprawnej diagnostyki w celu przeprowadzenia właściwej i niezbędnej operacji lub uchronienia pacjentki przed niepotrzebną interwencją chirurgiczną. Skalę problemu zobrazować może fakt, że każdego roku w Stanach Zjednoczonych z powodu guzów w miednicy mniejszej poddawanych jest operacji około 300 000 kobiet [1]. Sam rodzaj i miejsce przeprowadzenia wybranych procedur zabiegowych mają również istotne znaczenie dla dalszych losów kobiet operowanych z powodu zmian w miednicy mniejszej [2]. W pracy duBoisa i wsp. na podstawie analizy 44 doniesień dotyczących tego tematu wykazano, że wyniki leczenia zależą przede wszystkim od kwalifikacji lekarza wykonującego operację, a w drugiej kolejności – od charakteru ośrodka, w którym przeprowadzane jest leczenie. Najlepsze wyniki uzyskano w sytuacji, gdy zarówno lekarz, jak i ośrodek podejmujący leczenie charakteryzowali się specjalizacją w dziedzinie ginekologii onkologicznej. Porównując: specjaliści w dziedzinie położnictwa i ginekologii czy inni nie uzyskiwali na tym polu takich samych rezultatów. Autorzy zwracają więc uwagę na istotę wspierania szkolenia w tej specjalności szczegółowej oraz na potrzebę uwzględnienia tej wiedzy w procedurach ubezpieczeniowych, kontraktowych i prawnych [2]. Pacjentki z nowotworem złośliwym powinny być operowane pierwotnie według zasad ginekologii onkologicznej w wyspecjalizowanych ośrodkach i w związku z tym przedoperacyjna ocena ryzyka złośliwości jest niezwykle istotna. Na przeciwnym biegunie problemu znajdują się pacjentki, u których operowany guz miednicy mniejszej nie jest nowotworem złośliwym – w takich przypadkach należy już przed operacją zredukować stres związany z istniejącym problemem oraz dobrać metody operacyjne możliwie jak najmniej inwazyjne. W sytuacjach tych niezwykle przydatne są operacyjne metody endoskopowe, związane z krótszą hospitalizacją i szybszym powrotem do pełnej sprawności operowanych kobiet, ale jednocześnie metody, które zastosowane w leczeniu nowotworów złośliwych mogą wpływać na rozsiew komórek nowotworowych i pogarszać rokowanie [3, 4]. Niezwykle istotna zarówno dla klinicysty, jak i dla pacjentki, u której rozpoznano zmianę w miednicy mniejszej, jest zasada, aby guzy niepodejrzane o złośliwość oraz te, które nie stanowią ryzyka transformacji nowotworowej, nie były przyczyną niepotrzebnych lub zbyt radykalnych zabiegów chirurgicznych. W chirurgii obecnej doby – a w chirurgii ginekologicznej

szczególnie – należy promować zasadę operowania maksymalnie tego, co konieczne i minimalnie tego, co możliwe.

Na podstawie wyników dostępnych badań uważa się, że zastosowanie ultrasonograficznej oceny guza w skali szarości oraz przy wykorzystaniu techniki dopplerowskiej przez doświadczonego klinicystę, który dysponuje wysokiej klasy aparatem ultrasonograficznym, w większości przypadków pozwala prawidłowo klasyfikować guzy miednicy mniejszej jako złośliwe lub niezłośliwe [5–8]. W opracowaniach literaturowych określa się czułość subiektywnej oceny guza miednicy mniejszej jako złośliwy lub niezłośliwy na poziomie od 88% do 96% oraz swoistość takiego badania od 90% do 96% [5, 6]. W wielu przypadkach ocena ta umożliwia również wstępne prognozowanie dotyczące konkretnych rozpoznań szczegółowych, określając guz jako zmianę mogącą odpowiadać np.: torbieli endometrialnej, potworniakowi dojrzałemu czy wodniakowi jajowodu [9]. Także w odniesieniu do konkretnych rozpoznań często badanie ultrasonograficzne przeprowadzone przez doświadczoną osobę ma wysoką czułość i swoistość. W odniesieniu do endometriozy wartości te w cytowanych opracowaniach wynosiły odpowiednio 92% i 97%, w odniesieniu do potworniaków dojrzałych – 90% i 98%, a w odniesieniu do wodniaków jajowodu – nawet 100% i 100% [9].

Istnieje jednak grupa guzów, w której ocenie nawet najbardziej doświadczony klinicysta dysponujący nowoczesnym sprzętem ultrasonograficznym ma wątpliwości dotyczące prawidłowej klasyfikacji guzów jako złośliwe lub niezłośliwe; określa je wtedy jako *prawdopodobnie złośliwe* lub *prawdopodobnie niezłośliwe*. Największy problem diagnostyczny stanowi natomiast grupa guzów, w której prawidłowa klasyfikacja jest prawie niemożliwa. Grupa ta określona jest jako całkowicie niepewna w ocenie ultrasonograficznej pod względem charakteru złośliwości obserwowanych zmian [6, 10]. Takie guzy nazwano trudnymi diagnostycznie.

Zastosowanie metod diagnostycznych o wyższym stopniu zaawansowania powinno być skierowane właśnie na grupę guzów, które trudno poddać jednoznacznej klasyfikacji. Stosuje się w tej dziedzinie skale morfologiczne i dopplerowskie, oparte na zaawansowanych technikach modele matematyczne obliczające ryzyko procesu złośliwego; używa się również nowych markerów biochemicznych [11, 12]. W grupie trudnych guzów zasadne wydaje się także poszukiwanie testu diagnostycznego drugiego stopnia [12]. Postępowanie takie polega na wstępnej selekcji pacjentek z guzami jajnika na podstawie jednego z testów diagnostycznych i zastosowania kolejnych narzędzi w zależności od uzyskanego wyniku. Każdy następny etap procesu diagnostycznego powinien poprawiać jakość klasyfikacji podejrzanych zmian w obrębie przydatków i zbliżać w ten sposób klinicystę do postawienia prawidłowego rozpoznania przedoperacyjnego. Właściwy cel w tej dziedzinie można próbować osiągnąć na wiele sposobów. Poszukiwania odpowiedniej drogi mogą być wielokierunkowe, a podejście do tego zagadnienia może polegać na przykład na zastosowaniu kontrastu w badaniu ultrasonograficznym, wykorzystaniu ultrasonografii trójwymiarowej lub ultrasonografii dopplerowskiej o wysokiej rozdzielczości, a także poszukiwaniu nowych markerów biochemicznych czy ocenie markerów angiogenezy. Z uwagi na fakt, iż takie badania i testy mogą być trudno dostępne lub związane z dodatkowymi nakła-

dami finansowymi, pacjent zostałby zakwalifikowany do ich przeprowadzenia tylko wtedy, gdy subiektywna ocena byłaby niepewna lub obliczone ryzyko znajdowałoby się blisko punktu odcięcia stosowanego modelu matematycznego [12].

Znacząca większość nowotworów złośliwych jajnika to nowotwory nabłonkowe, czyli raki. W tej grupie nowotworów istnieje jednak pewna różnorodność i związana z tym możliwość precyzyjnej diagnostyki ultrasonograficznej i biochemicznej w zależności od podtypu nowotworu nabłonkowego. Inne są bowiem wykładniki diagnostyczne dla gruczolakoraków surowiczych, śluzowych, endometrioidalnych czy niezróżnicowanych. Dodatkowy problem diagnostyczny stanowi grupa złośliwych nowotworów nienabłonkowych na przykład pochodzenia germinalnego czy gonadalnego. Wśród zmian niezłośliwych istnieją również rozbieżności w możliwości postawienia prawidłowego rozpoznania przedoperacyjnego, jeśli mamy do czynienia np. z guzem endometrialnym, potworniakiem dojrzłym czy ropniem jajnikowo-jajowodowym [9, 13].

Istotne wydają się badania nad poszukiwaniem efektywnych metod poprawiających wyniki diagnostyczne w grupie trudnych do prawidłowej klasyfikacji guzów jajnika oraz określenie cech, jakie takie testy muszą mieć, aby w sposób istotny poprawić proces przedoperacyjnej kwalifikacji pacjentek do dalszego leczenia.

## 1.2. Epidemiologia raka jajnika

Rak jajnika pod względem zachorowalności według statystyk z 2012 roku jest siódmym (3,6%) nowotworem u kobiet na świecie oraz zajmuje również siódme miejsce (4,3%) w statystykach pod względem śmiertelności [14]. Międzynarodowa Agencja Badań nad Rakiem (IARC) ocenia, że w roku 2012 na raka jajnika zachorowało 238 719 kobiet i zmarło z tego powodu 151 905 kobiet [14]. Rocznie w Europie zachorowalność na raka jajnika osiąga wskaźnik 9,9/100 000 kobiet, a śmiertelność 5,3/100 000 kobiet [14]. Odpowiednie statystyki dla Polski przedstawiają się następująco: zachorowalność 13,6/100 000 kobiet rocznie, śmiertelność 7,3/100 000 kobiet rocznie [14]. Wynika z tego, że Polska w Europie należy do krajów o wyższym niż średni poziomie zachorowalności i umieralności z powodu tego nowotworu. W Polsce rak jajnika zajmuje obecnie piąte i czwarte miejsce pod względem zachorowalności i umieralności na nowotwory złośliwe w populacji kobiet [14].

W krajach europejskich średnie pięcioletnie przeżycie pacjentek leczonych z powodu raka jajnika wynosi około 40% [15]. Progresja w tym względzie w ciągu ostatnich lat jest nieznaczna, a równocześnie nie notuje się wzrostu wyleczeń z tej, obecnie często nazywanej śmiertelną, choroby [15]. Rokowanie zależy od cech charakteryzujących biologię danego nowotworu, od momentu rozpoznania choroby oraz od miejsca i sposobu jej leczenia. Wobec faktu, że na biologię tego nowotworu właściwie nie mamy wpływu, badania należy skupić nad wczesnym jego wykrywaniem i określeniem wskazań do jak najskuteczniejszego leczenia pacjentek z guzami jajnika. Tak niepomyślne wyniki leczenia spowodowane są najczęściej brakiem wczesnych objawów choroby oraz brakiem skutecznych metod przesiewowych oraz paneli diagnostycznych

dających możliwość postępowania wielopoziomowego polegającego na kompilacji najlepszych dostępnych testów diagnostycznych możliwych obecnie do przeprowadzenia w populacji kobiet. Badania powinny zmierzać w kierunku stworzenia takiego narzędzia. Pewnym przykładem możliwości diagnostyczno-terapeutycznych może być rak endometrium, który – pomimo podobnych wskaźników dotyczących pięcioletniego przeżycia w poszczególnych stopniach zaawansowania klinicznego – całościowo przechodzi na dalszy plan w zakresie przyczyn zgonów spowodowanych nowotworami złośliwymi u kobiet. Sukces w odniesieniu do wczesnego rozpoznawania raka jajnika i różnicowania między guzami złośliwymi i niezłośliwymi także daje nadzieję, że pięcioletnie przeżycia osiągną poziom 80% – tak jak obecnie dzieje się u kobiet z rakiem endometrium.

### **1.3. Obraz kliniczny i możliwości diagnostyczne złośliwych guzów jajnika**

Diagnostyka nowotworów złośliwych jajnika jest wciąż zadaniem bardzo trudnym. Pomimo istnienia pewnych objawów tej choroby są one w początkowym jej okresie niecharakterystyczne i łączone najczęściej z dolegliwościami ze strony przewodu pokarmowego lub wręcz są one bagatelizowane. Sprowadzają się bowiem do: odczuwania niestrawności, wzdęć, odbijania, szybkiego uczucia pełności w jamie brzusznej nawet po małym posiłku, uczucia ciężkości w dole brzucha czy utraty apetytu. Pomimo tego że objawy raka jajnika na wczesnym etapie zaawansowania klinicznego są niespecyficzne, szczegółowe analizowanie ich częstości i czasu trwania oraz intensywności może stanowić istotny wkład we wczesne rozpoznanie choroby, szczególnie jeśli informacje te analizowane będą również przez lekarzy pierwszego kontaktu. Podjęto nawet próbę stworzenia indeksu objawów, który w analizie regresji logistycznej wykazał pewną skuteczność w diagnostyce raka jajnika (czułość około 56% i swoistość około 90%, szczególnie u kobiet po 50 roku życia) [16]. Podjęto również próbę łączenia indeksu objawów z oceną markerów nowotworowych, takich jak Ca125 i HE4 [17]. Powiększenie obwodu brzucha i trudności w oddychaniu, stanowiąc wykładnik zaawansowanej choroby nowotworowej związanej często z występowaniem wodobrzusza, są niestety objawami późnymi i przez to mało przydatnymi we wczesnej diagnostyce raka jajnika.

W sytuacji związanej z późnym występowaniem charakterystycznych objawów choroby większość rozpoznań jest dokonywana na zaawansowanym jej etapie, klasyfikowanym według FIGO jako III lub IV stopień. Rutynowe i regularne ginekologiczne badanie palpacyjne i ultrasonografia przezpochwowa muszą być więc zalecane wszystkim kobietom w celach diagnostycznych i również w pewnym sensie przesiewowych. Tylko w sytuacji wczesnego wykrycia tej potencjalnie śmiertelnej choroby można mieć nadzieję na poprawę wyników leczenia kobiet z rakiem jajnika.

Niestety również palpacyjne badanie ginekologiczne związane jest z istotnym ryzykiem wyników fałszywie ujemnych ze względu na istnienie dużej grupy małych, niebolesnych zmian mających charakter raka jajnika na wczesnym etapie rozwoju. Początkowo sądzono, że ryzyko

nowotworu złośliwego wiąże się z wielkością guza, jednak obecnie uważa się, że sama objętość zmiany jest niespecyficzna dla procesu złośliwego. Istnieje bowiem wiele dużych zmian niezłośliwych, a także większość nowotworów złośliwych w początkowym etapie choroby ma niewielkie rozmiary.

Duży postęp w procesie diagnostycznym guzów przydatków wniosło wprowadzenie ultrasonografii, szczególnie przy użyciu sondy przezpochwowej. Pozwoliło to nie tylko wykrywać zmiany, które nie dawały objawów i były niewyczuwalne w badaniu palpacyjnym, ale również dostarczyć wiele informacji o morfologii i charakterze guza. Wykazano, że między innymi takie cechy, jak: mieszana echogeniczność, obecność elementów litych, wyrosli brodawkowatych, obustronność zmian czy obecność zwiększonej ilości wolnego płynu w jamie otrzewnowej, w istotny sposób zwiększają ryzyko rozpoznania nowotworu złośliwego. Aby usystematyzować informacje płynące z oceny morfologii guza w badaniu ultrasonograficznym, stworzono liczne indeksy morfologiczne mające na celu ułatwienie interpretacji wyników i standaryzację prowadzonych badań ultrasonograficznych. Powstały między innymi skale: Granberga, Sassone, Lerner, DePriesta czy Ferrazziego [18–22]. W naszym ośrodku stworzyliśmy również własną skalę morfologiczną – SM, której zastosowanie przynosi wymierne korzyści w diagnostyce pacjentek z guzami jajnika [23].

Kolejnym elementem mogącym mieć znaczenie w prognozowaniu charakteru guzów jajnika jest wykorzystanie techniki dopplerowskiej w badaniu ultrasonograficznym. Założenia takiego postępowania opierają się na badaniach dotyczących neoangiogenezy w nowotworach złośliwych. Dotyczy to również raków zlokalizowanych w obrębie jajników. Badania zapoczątkowane przez Folkmana udowodniły, że proces powstawania nowych, patologicznych naczyń w guzie jest niezbędny do jego wzrostu i progresji, jak również do migracji i powstawania przerzutów nowotworowych [24]. Istnieje wiele czynników zarówno pro-, jak i antyangiogennych, których wzajemne oddziaływanie wpływa na proces powstawania nowych naczyń krwionośnych. Są to między innymi: VEGF, bFGF, TGF, endotelina-1, niektóre metaloproteinazy (MMP-2, MMP-9) oraz interleukina-8. Poznanie tego aspektu biologii nowotworów pozwala nie tylko poszukiwać sposobów rozpoznawania raka jajnika, ale również stwarza możliwości terapeutyczne przy zastosowaniu leków antyangiogennych. Istnienie patologicznych naczyń może być także poszukiwane w obrazie ultrasonograficznym wykorzystującym technikę dopplerowską. Poszukuje się przede wszystkim centralnego unaczynienia guza i obecności przepływu szczególnie w elementach litych czy wyrosłach endofitycznych.

Kolejnym etapem oceny dopplerowskiej jest pomiar wskaźników przepływu, takich jak: PI, RI czy PSV, w celu potwierdzenia niskooporowego przepływu o wysokiej prędkości w naczyniach sugerujących istnienie procesu złośliwego. Aby zobiektywizować uzyskane dane w tym zakresie, stworzono również indeksy unaczynienia guza sumujące różne jego elementy jakościowe i ilościowe. Powstała między innymi skala wg Caruso oraz skala SD stworzona w naszym ośrodku [25, 26].

Pewnym rozwiązaniem i nadzieją na poprawę skuteczności diagnostycznej było połączenie informacji dotyczących morfologii guza i jego unaczynienia. Podejście takie z dobrym skutkiem zaprezentowali Alcazar i wsp., tworząc prostą, czteroelementową, a zarazem wysoce skuteczną (dokładność 97%) skalę przedoperacyjnej oceny guzów jajnika [27].

Pewną nadzieję dawało również zastosowanie ultrasonografii dopplerowskiej o wysokiej rozdzielczości za pomocą takich technik, jak na przykład e-Flow®, która pozwala na niezwykle precyzyjną ocenę nawet bardzo drobnych naczyń w guzie [28]. Niestety z powodu małej dostępności wysoce specjalistycznej aparatury ultrasonograficznej oraz braku standaryzacji prowadzonych badań nie można było jak dotąd wykazać wyższości tej metody nad klasycznym badaniem dopplerowskim.

Innym kierunkiem poszukiwań skutecznych metod diagnostycznych było zastosowanie zaawansowanych metod matematycznej analizy danych. Wykorzystano w tym celu większość dostępnych obecnie modeli matematycznych, między innymi regresję logistyczną czy sztuczne sieci neuronowe [11, 29]. W naszym ośrodku również prowadzono badania nad zastosowaniem tych metod w diagnostyce guzów jajnika, a także analizowano dostępną informację na podstawie teorii zbiorów przybliżonych, między innymi w rozprawie doktorskiej autora projektu habilitacyjnego [30–32].

Kolejnym obszarem poszukiwań metod diagnostycznych u kobiet z guzami jajnika były próby łączenia informacji wynikających między innymi z badania ultrasonograficznego, statusu menopauzalnego czy poziomu niektórych markerów biochemicznych. Powstały na przykład takie skale, jak: *risk of malignancy index* – RMI, która ocenia dane z badania ultrasonograficznego, poziom Ca125 i status menopauzalny pacjentki, czy *risk of ovarian malignancy algorithm* – ROMA, która ryzyko raka wylicza na podstawie stężenia Ca125 i HE4, biorąc równocześnie pod uwagę status menopauzalny badanej pacjentki [33, 34].

#### 1.4. Ocena guzów jajnika wg IOTA

Współcześnie wiodącą organizacją zajmującą się diagnostyką guzów jajnika jest *International Ovarian Tumor Analysis Group* – IOTA. Ta międzynarodowa grupa naukowców o najwyższym doświadczeniu wywodzących się z wielu ośrodków o ogromnym znaczeniu opiniotwórczym stworzyła na początkowym etapie swojej działalności zunifikowane zasady ultrasonograficznej oceny guzów przydatków, a później według tych zasad oceniła tysiące guzów i przeanalizowała uzyskane dane na bardzo wiele sposobów, poszukując najlepszego narzędzia diagnostycznego [35]. Niewątpliwą zaletą badań prowadzonych przez grupę IOTA jest fakt, że badania te prowadzone są w różnych populacjach przez różnych badaczy, co w pewnym sensie uogólnia uzyskiwane wyniki. Dzięki swemu wieloośrodkowemu charakterowi grupa naukowców należących do IOTA pracuje na bardzo dużych populacjach pacjentek, co również pozwala wyciągać bardziej wiążące wnioski. Ma to istotne znaczenie szczególnie u pacjentek z rakiem jajnika, którego różnorodność powoduje, że badania prowadzone w jednym ośrodku przez kilka lat opierają

się często na kilku przypadkach w konkretnych rzadkich podtypach raków jajnika, zwłaszcza gdy analizę danych prowadzi się z uwzględnieniem statusu menopauzalnego i stopnia klinicznego zaawansowania choroby.

Grupa IOTA, jak wspomniano, w początkowym etapie swojej działalności naukowej opublikowała dokładne zasady oceny guzów jajnika [35]. Pozwala to na stosunkowo łatwe i precyzyjne porozumiewanie się pomiędzy badaczami zajmującymi się guzami jajnika. Stwarza to również możliwość przesyłania informacji i tworzenia baz danych informacji zebranych w różnych ośrodkach przez różnych klinicystów – dzięki temu powstaje duże prawdopodobieństwo powtarzalności uzyskanej informacji. Popularyzacja i wykorzystywanie tych zasad powinny stanowić istotny element szkolenia ultrasonograficznego, czego rezultatem może być poprawa efektywności badań diagnostycznych opartych na tej metodzie.

Grupa IOTA prezentuje również niezwykle potencjał w wykorzystywaniu nowych metod matematycznej analizy danych. Dysponując olbrzymią bazą danych, w sposób statystycznie uzasadniony członkowie tej grupy testują kolejne metody matematyczne i często dochodzą do bardzo ciekawych wniosków [11, 12, 29, 36].

Jednym z elementów badania guza wg zasad IOTA jest subiektywna ocena charakteru jego złośliwości. Polega to na określeniu, czy dany guz jest *na pewno niezłośliwy*, *prawdopodobnie niezłośliwy*, *niepewny*, *prawdopodobnie złośliwy* czy *na pewno złośliwy*. Również grupa guzów *niepewnych* w ocenie ultrasonograficznej podzielona jest na te *złośliwe* i *niezłośliwe*. Ocena subiektywna przeprowadzona przez doświadczonego klinicystę dysponującego odpowiednim sprzętem ultrasonograficznym jest obecnie uważana za metodę najbardziej skuteczną w prognozowaniu złośliwości guzów przydatków [5, 7]. Jej czułość oceniana jest na 90%, a swoistość na 93% [12].

Grupa IOTA i jej projekt wnosi niewątpliwie olbrzymi wkład w tworzenie nowoczesnych i skutecznych metod diagnostycznych dotyczących pacjentek z guzami jajnika. Wieloośrodkowość i imponująca grupa ocenianych guzów jest atutem trudnym do przecenienia. Jedyne zastrzeżenie nasuwa się w związku z w pewnym sensie „hermetycznie” zamkniętym charakterem prezentowanych wyników badań. Wiele publikacji nazywanych zewnętrzną walidacją tworzonych metod diagnostycznych przygotowywanych jest w istocie przez członków grupy IOTA i w tym znaczeniu stanowią jedynie walidację wewnętrzną. Narzędzia diagnostyczne powinny być sprawdzane w innych ośrodkach przez niezależnych klinicystów i w ten sposób potwierdzany powinien być potencjał tych narzędzi. Na kilku etapach prezentowanego projektu habilitacyjnego poddano zewnętrznej walidacji metody stworzone przez grupę IOTA. W tworzeniu metodologii prezentowanych w projekcie habilitacyjnym badań naukowych wykorzystano również kilka spośród proponowanych przez IOTA narzędzi do oceny guzów jajnika.

## 1.5. Badania markerów w diagnostyce nowotworów jajnika

W diagnostyce onkologicznej dużą nadzieję pokłada się w poszukiwaniu różnych substancji w surowicy diagnozowanych pacjentów i skutecznym zastosowaniu oceny stężenia tych substancji. Poszukiwanie markerów nowotworowych może stanowić istotną pomoc zarówno na etapie badań przesiewowych, jak i rozpoznawania i różnicowania widocznych w badaniach obrazowych guzów. Niewątpliwie bardzo istotne znaczenie markery nowotworowe mają w trakcie monitorowania leczenia i wczesnego wykrywania ewentualnej wznowy procesu nowotworowego.

U pacjentek z rakiem jajnika problem znalezienia czułego i swoistego markera nowotworowego pozostaje wciąż aktualny. Niezaprzeczalne znaczenie ma tu ocena stężenia markera Ca125. Uznany obecnie za klasyczny marker raka jajnika niestety wykazuje pewne ograniczenia szczególnie w odniesieniu do czułości w przypadku wczesnych postaci raka, jak i swoistości, przyjmując niejednokrotnie patologiczny poziom w przypadku zmian niezłośliwych – choćby guzów endometrialnych czy procesów zapalnych.

Innym obiecującym markerem biochemicznym raka jajnika jest HE4. Jego charakterystyka nie ustępuje cechom Ca125, a ponadto wydaje się bardziej czuły we wczesnych postaciach raka, a także bardziej odporny na wyniki fałszywie dodatnie w przypadku zmian niezłośliwych.

W grupie markerów przydatnych w diagnostyce guzów jajnika oceniano również TPS, VEGF, Ca19.9, Ca15.3, CEA, AFP, OVX-1, CYFRA-21 i wiele innych. W prezentowanym projekcie habilitacyjnym oceniono również rolę takich substancji, jak HE4, osteopontyna, endotelina-1 czy bFGF.

Jak dotąd żaden z analizowanych markerów nie charakteryzuje się wystarczającą precyzją diagnostyczną, aby samodzielnie mógł być podstawą tworzenia skutecznych badań przesiewowych czy diagnostyki różnicowej. Pewną nadzieję daje tworzenie narzędzi opartych na kombinacji kilku markerów lub na kombinacji oceny markerów z badaniem ultrasonograficznym lub dopplerowskim. Niejednokrotnie stężenie markerów nowotworowych włączone jest w tworzenie bardziej zaawansowanych metod diagnostycznych na podstawie matematycznej analizy danych, modeli prognostycznych lub algorytmów decyzyjnych.

## 2. CEL CYKLU PRAC

Celem przeprowadzonego projektu habilitacyjnego była analiza wieloczynnikowa dostępnych przedoperacyjnie informacji dotyczących pacjentek z guzami przydatków, mająca wyłonić te elementy, które istotnie wpływają na jakość klasyfikacji guzów jako złośliwe lub niezłośliwe. Założono stworzenie nowego narzędzia diagnostycznego skonstruowanego na podstawie badania ultrasonograficznego i oceny dopplerowskiej, analizy nowych markerów biochemicznych i markerów angiogenezy oraz nowoczesnych matematycznych metod analizy danych wspomagających podejmowanie decyzji zgodnie z dostępną informacją. Założono stworzenie metody nazwanej PROCA (*predicting ovarian cancer*), która w sposób prosty, a jednocześnie skuteczny pozwoli klinicystom zwiększyć możliwość precyzyjnej oceny pacjentek z guzami jajnika i wesprze podejmowanie właściwych wyborów dotyczących: konieczności przeprowadzenia leczenia operacyjnego, sposobu i drogi dostępu do zdiagnozowanych zmian, miejsca i ośrodka, w którym ewentualna operacja powinna zostać przeprowadzona. Narzędzie to poza tym powinno mieć takie cechy, jak: wysoka swoistość i czułość diagnostyczna oraz łatwość i intuicyjność zastosowania; powinno także dawać możliwość stworzenia ekonomicznego uzasadnienia proponowanych badań diagnostycznych. W realizacji tego celu wieloetapowo przeanalizowano możliwości predykcyjne dostępnych metod diagnostycznych i sprawdzono proponowany model na nowej, prospektywnej grupie pacjentek z guzami przydatków.

### 3. MATERIAŁ I METODYKA. ANALIZA STATYSTYCZNA

Projekt habilitacyjny obejmował cykl siedmiu prac, w których przeanalizowano potencjalnie istotne czynniki prognostyczne w diagnostyce guzów jajnika. Badania prowadzono w latach 2003–2014. Badania przeprowadzono w grupie od 53 do 686 pacjentek z guzami przydatków diagnozowanych i leczonych w Klinice Ginekologii Operacyjnej Uniwersytetu Medycznego im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu. Pacjentki na wszystkich poszczególnych etapach badań analizowano pod względem ostatecznej histopatologicznej diagnozy, dzieląc je na dwie grupy: z rozpoznaniem nowotworu złośliwego i z rozpoznaniem zmiany niezłośliwej w obrębie przydatków. W większości prac badania przeprowadzono z uwzględnieniem statusu menopauzalnego badanych kobiet, typu histopatologicznego rozpoznanych zmian oraz stopnia zaawansowania klinicznego choroby w sytuacji rozpoznania nowotworu złośliwego jajnika. Badania ultrasonograficzne przeprowadzono w Klinice Ginekologii Operacyjnej Uniwersytetu Medycznego im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu; wykonano je za pomocą aparatów firmy Aloka, modele 2000 i 5500, przy użyciu sondy przezpochwowej o częstotliwości 7,5 MHz.

Badania biochemiczne oceny stężenia markerów nowotworowych, takich jak: Ca125, HE4, osteopontyna, endotelina-1, bFGF, przeprowadzono przy użyciu dostępnych metod immuno-histochemicznych i immunoenzymatycznych w Laboratorium Ginekologiczno-Położniczego Szpitala Klinicznego Uniwersytetu Medycznego im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu oraz w Laboratorium Zakładu Neurochemii i Neuropatologii Katedry Neurologii Uniwersytetu Medycznego im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu.

Ostateczną diagnozę weryfikowano na podstawie wyniku badania histopatologicznego materiału uzyskanego podczas procedury operacyjnej. Całość materiału badawczego oceniano zgodnie z klasyfikacją wg WHO oraz klasyfikacją zaawansowania klinicznego choroby wg FIGO.

Na wszystkie badania uzyskano zgodę lokalnej komisji bioetycznej oraz świadomą zgodę pacjentek włączonych do badania.

\* \* \*

Poza podstawowymi badaniami statystycznymi dotyczącymi wartości prognostycznych, takich jak: ocena czułości, swoistości i dokładności testu oraz oceny wyników fałszywie pozytywnych i fałszywie negatywnych, a także wyznaczenie pozytywnej i negatywnej wartości predykcyjnej, analiza statystyczna przeprowadzonych badań oparta została głównie na ocenie krzywych ROC i analizie pola powierzchni pod krzywą przy użyciu oprogramowania GraphRoc oraz GraphPad. Wykorzystywano również programy statystyczne, takie jak: Statistica w wersjach 6.0 i 7.0, program PQ Stat 1.4.6, MedCalc v. 11, Statistica Neural Network 5.0 oraz Cytel Studio StatXact 9. W kilku badaniach analizę dostępnych danych oparto na nowoczesnej

metodzie oceny poprawy klasyfikacji w przypadku dołączenia dodatkowych testów diagnostycznych – *net reclassification improvement* – NRI, która dostarcza precyzyjnej informacji, czy dodanie kolejnego testu poprawia jakość ocenianych metod diagnostycznych. W badaniach wykorzystano również analizę regresji logistycznej oraz ocenę sztucznych sieci neuronowych.

W podsumowaniu badań, w trakcie tworzenia nowego narzędzia diagnostycznego – PRO-CA – przeprowadzono ponownie analizę regresji logistycznej oraz stworzono reguły decyzyjne, wykorzystując program Weka 3.6, obejmujący dziesięciokrotną stratyfikację walidacji krzyżowej.

## 4. WYNIKI

### 4.1. Porównanie wartości diagnostycznej sześciu ultrasonograficznych skal morfologicznej oceny guzów jajnika (Publikacja I)

Poszukiwania skutecznych narzędzi diagnostycznych w ocenie guzów przydatków dotyczą między innymi tworzenia i udoskonalania indeksów morfologicznej oceny guza w badaniu ultrasonograficznym. Istnieje szereg takich narzędzi stworzonych przez różne ośrodki zajmujące się diagnostyką guzów jajnika. Również w naszym ośrodku opracowaliśmy indeks morfologicznej oceny zmian w obrębie przydatków (SM), którego stosowanie w praktyce i ocena zewnętrzna zaowocowały publikacją w roku 2005 [23].

Wszystkie tego typu indeksy mają na celu zebranie najistotniejszych cech badania ultrasonograficznego, określenie ich nasilenia w skali punktowej oraz po zsumowaniu punktów oszacowanie ryzyka procesu złośliwego w badanym guzie przydatków. Stworzony jest w ten sposób punkt odcięcia wartości stosowanego indeksu; przekroczenie tego punktu w ocenie ultrasonograficznej związane jest z wysokim ryzykiem istnienia nowotworu złośliwego. Pomaga to mniej doświadczonym klinicyście wykonującym badanie ultrasonograficzne w podejmowaniu właściwych decyzji bez konieczności dokonywania przez doświadczonego specjalistę dodatkowej oceny subiektywnej, która obecnie uważana jest za najskuteczniejszą metodę diagnostyczną. Znaczna liczba stworzonych indeksów morfologicznych świadczy jednak o ich pewnej niedoskonałości. Istotnym wydaje się również sprawdzenie, w jakim stopniu kreowane indeksy są przydatne w innych ośrodkach, w których często istnieje inny charakter badanej populacji kobiet, inna osoba wykonuje badanie ultrasonograficzne, dysponując najczęściej odmiennym urządzeniem ultrasonograficznym. Standaryzacja badania ultrasonograficznego i jego zewnętrzna walidacja jest niezbędna przed wprowadzeniem go do rutynowego postępowania diagnostycznego. Niezwykle istotne jest, by takie narzędzie precyzyjnie pomagało w podejmowaniu decyzji o leczeniu operacyjnym, o metodzie dostępu do miednicy mniejszej oraz uwzględniało poziom referencji i specjalizację ośrodka, który takie leczenie przeprowadza.

Początkowe badania w projekcie habilitacyjnym miały na celu ocenę wartości diagnostycznej sześciu popularnych indeksów morfologicznej oceny guzów jajnika poprzez ich zewnętrzną walidację w grupie kobiet badanych w naszym ośrodku (Publikacja I) [37]. Wartość diagnostyczną analizowanych indeksów porównano między innymi z własną skalą morfologiczną stworzoną wcześniej w naszym ośrodku na podstawie badań innej grupy kobiet; była więc to jednocześnie wewnętrzna walidacja tej skali. Oceniano skalę Granberga i wsp., Sassone

i wsp., De Priesta i wsp., Lerner i wsp., Ferrazziego i wsp. oraz własną skalę opracowaną przez Szpurka i wsp. [18, 19, 21–23, 38].

Na podstawie analizy krzywych ROC i pola pod krzywymi porównano wartość diagnostyczną analizowanych indeksów morfologicznych i wykazano, że w trakcie prospektywnej walidacji uzyskują one niższą wartość diagnostyczną niż w doniesieniach źródłowych. Pole powierzchni pod krzywą ROC w grupie walidacyjnej zawierało się w granicach od 0,607 do 0,756, podczas gdy w doniesieniach źródłowych wynosiło od 0,883 do 0,963. Wykazano istotne statystycznie różnice pomiędzy powyższym parametrem dla własnej skali morfologicznej i skali Sassone ( $p = 0,02$ ), Ferrazziego ( $p = 0,03$ ) oraz Lerner ( $p = 0,04$ ). Wykazano również znaczne przesunięcie stosunku czułości do swoistości, ze znacznym obniżeniem swoistości dla punktów odcięcia przypisanych do analizowanych indeksów. Dla zadowalającego, choć nie idealnego, poziomu czułości w granicach od 79% do 87% swoistość ta wynosiła zaledwie 35%–54%.

W dwóch innych doniesieniach dotyczących walidacji indeksów morfologicznych autorstwa Ferrazziego i wsp. oraz Mola i wsp. uzyskano podobne wyniki, które potwierdzają niższą od publikowanej w pracach źródłowych [19, 39] wartość prognostyczną zewnętrźnie ocenianych modeli diagnostycznych. Ferrazzi i wsp. uzyskali wartość pola pod krzywą ROC dla walidowanych indeksów w przedziale od 0,720 do 0,750 [19]. W badaniach Mola i wsp. wykazano natomiast nieco większy zakres pola pod krzywą ROC – od 0,810 do 0,900 – jednak również był on niższy niż w doniesieniach źródłowych [39]. Prawdopodobnie ta może być tłumaczona odmienną charakterystyką badanych populacji kobiet, trudnościami w jednoznacznej interpretacji przekazywanych zasad ultrasonograficznej oceny guzów oraz niejednorodnym charakterem złośliwych nowotworów jajnika. Wyniki fałszywie pozytywne, które obniżają swoistość badanych indeksów, związane są z nieprawidłową w ocenie ultrasonograficznej klasyfikacją guzów niezłośliwych i traktowaniem ich jako nowotwory złośliwe. Fakt ten nie jest wprawdzie tak brzemienny w skutki, jak uzyskanie wyników fałszywie ujemnych i tym samym przeoczenie nowotworu złośliwego, co może mieć tragiczne konsekwencje dla diagnozowanej pacjentki, niemniej w przypadkach wyników fałszywie pozytywnych kobiety są często operowane w zbyt radykalny sposób, co wpływa na ryzyko powikłań, czas powrotu pacjentek do zdrowia i koszty przeprowadzonego leczenia.

Wnioski z tej części przeprowadzonych badań stanowią podstawę do stwierdzenia, że zastosowanie indeksów morfologicznej oceny guza jest uzasadnione w przedoperacyjnym prognozowaniu ich złośliwości, niemniej wartość diagnostyczna w prospektywnej grupie walidacyjnej nie jest tak wysoka, jak w doniesieniach źródłowych. Najwyższe wartości prognostyczne uzyskała własna skala morfologiczna, choć wartości te również były nieco niższe niż w doniesieniu źródłowym, to znaczy niższe od tych, które uzyskano w trakcie tworzenia naszej skali.

Istotnym elementem prowadzonych badań jest sprawdzenie wartości praktycznej proponowanych narzędzi diagnostycznych w zewnętrznej walidacji. Takie postępowanie jest ważne

przed wprowadzeniem poszczególnych testów diagnostycznych do rutynowego postępowania klinicznego. W przypadku niezadowalających wyników zastosowania proponowanych metod diagnostycznych należy poszukiwać innych metod o wyższej wartości diagnostycznej.

#### **4.2. Wpływ typu histopatologicznego guza jajnika na wartość prognostyczną ultrasonograficznego indeksu morfologicznego (Publikacja II)**

Kolejnym etapem projektu habilitacyjnego była ocena wpływu typu histopatologicznego guza jajnika na wartość prognostyczną stworzonego i stosowanego w naszym ośrodku ultrasonograficznego indeksu morfologicznej oceny guzów w obrębie przydatków (Publikacja II) [40].

W grupie guzów jajnika istnieje duża różnorodność dotycząca cech charakteryzujących pacjentki dotknięte tą patologią, ich wieku, statusu menopauzalnego, prezentowanych objawów oraz wykładników biochemicznych i hormonalnych toczącego się procesu chorobowego. Różnorodność ta dotyczy również obrazu ultrasonograficznego i jest obecna zarówno w grupie guzów niezłośliwych, jak i nowotworów złośliwych. Największą grupę nowotworów złośliwych stanowią zmiany wywodzące się z nabłonka, czyli raki [41]. Z uwagi na najistotniejszy problem terapeutyczny większość narzędzi diagnostycznych powinna być więc nastawiona na wczesne wykrywanie właśnie tej grupy nowotworów złośliwych jajnika. Istnieje też pewna grupa nowotworów złośliwych pochodzenia gonadalnego lub germinalnego, których diagnostyka przedoperacyjna jest także istotna, choć niejednokrotnie utrudniona, a wiele cech charakterystycznych dla tego procesu możliwych do oceny przedoperacyjnej różni się od tych typowych dla nabłonkowego raka jajnika [41].

Badaniami objęto dużą grupę – 686 pacjentek, wśród których 37,3% stanowiły kobiety, u których rozpoznano w pooperacyjnym badaniu histopatologicznym nowotwór złośliwy. Wykazano, że indeks morfologiczny przy przyjęciu punktu odcięcia na poziomie 8 punktów stosunkowo precyzyjnie prognozował istnienie procesu złośliwego w całej badanej grupie kobiet. Czułość tego testu wynosiła 86,7%, swoistość – 77,0%, a dokładność – 80,6%. Potwierdziło to opinię o stosunkowo niższej swoistości w porównaniu z czułością dla indeksu morfologicznego stosowanego w diagnostyce guzów przydatków. Wykazano, że pewne cechy morfologiczne guza są charakterystyczne dla procesu złośliwego, a wśród nich największe znaczenie ma obecność wyrośli endofitycznych lub elementu litego oraz obustronne występowanie zmian.

Po przeanalizowaniu wyników oceny morfologicznej w poszczególnych podgrupach zależnych od rozpoznania histopatologicznego wykazano jednoznacznie, że wartości prognostyczne tego testu znacznie się w nich różnią. W grupie nowotworów złośliwych najlepszą czułość uzyskano dla zmian przerzutowych, gruczolakoraków surowiczych i jasnokomórkowych. Jest to istotna informacja szczególnie w odniesieniu do raków surowiczych, które stanowią największy odsetek nabłonkowych raków jajnika. Czułość w tym przypadku wynosiła od 90% do 100%. Najniższą z kolei czułość indeksu morfologicznego wykazano w grupie ziarniszczaków i rozrodczaków, odpowiednio 64,3% i 60%. Potwierdza to tezę, że nowotwory nienabłonkowe

mają nie tylko inne cechy kliniczne i laboratoryjne, ale także są mniej wrażliwe na wykrywanie i prawidłową klasyfikację w badaniu ultrasonograficznym w skali szarości. Pewnym ograniczeniem przeprowadzonych badań był fakt, że pomimo dużej grupy badanej po podziale na podgrupy zgodne z ostatecznym rozpoznaniem histopatologicznym niektóre z nich były mało liczne.

Istotna wydaje się również analiza swoistości indeksu morfologicznego w grupie nowotworów i zmian niezłośliwych. W tej części badań wykazano, że indeks doskonale lub bardzo dobrze sprawdza się w grupie między innymi: torbieli prostych, ciała żółtego torbielowatego, torbieli krwotocznych czy wodniaków jajowodu, gdzie swoistość wynosi od 96,5% do 100%. Natomiast nieco gorzej parametr ten prezentuje się w grupie torbielakogruczolaków śluzowych, potworniaków dojrziałych czy torbieli endometrioidalnych (61,3%–76,4%). Na szczególne typowy wygląd i ocena ultrasonograficzna guzów o charakterze potworniaka czy torbieli endometrioidalnej pozwala z dużą precyzją prognozować te zmiany na podstawie wrażenia subiektywnego. Podobnego zdania są także Valentin i wsp., którzy twierdzą, że dzięki badaniu ultrasonograficznemu w skali szarości prawidłowe, specyficzne rozpoznanie przedoperacyjne można postawić w prawie połowie przypadków (42%)[9]. W przeprowadzonych badaniach wykazano również, że indeks morfologicznej oceny guza w ocenie ultrasonograficznej jest nieprzydatny w przypadku ropni jajnikowo-jajowodowych, włókniaków czy guzów Brennera, gdzie w 100% myli się i określa te zmiany fałszywie jako nowotwory złośliwe. Podobnie jak w grupie nowotworów złośliwych w analizowanym materiale klinicznym rozpoznania powyższe były również stosunkowo rzadkie i wyniki mogą być obarczone błędem mało licznej grupy badanej.

Wnioski wynikające z tej części projektu habilitacyjnego potwierdzają przydatność indeksu morfologicznej oceny guzów jajnika w przedoperacyjnym prognozowaniu ich złośliwości, niemniej w niektórych grupach specyficznych rozpoznań histopatologicznych uzyskują znacznie niższe wartości prognostyczne. Wynika z tego potrzeba poszerzania procesu diagnostycznego o inne elementy analizy dostępnej przedoperacyjnie informacji, aby prawidłowo sklasyfikować rozpoznany guz do grupy nowotworów złośliwych lub zmian niezłośliwych.

#### **4.3. Analiza wyników fałszywie ujemnych subiektywnej oceny ultrasonograficznej guzów jajnika (Publikacja III)**

Jak wspomniano we wprowadzeniu, obecnie uważa się, że ocena subiektywna doświadczonego klinicysty w badaniu ultrasonograficznym ma najwyższą wartość prognostyczną. Wrażenie, jakie odnosi badacz podczas analizy obrazu ultrasonograficznego, pozwala mu prognozować, czy dany guz jest złośliwy, czy niezłośliwy. Możliwa jest również w wielu przypadkach stosunkowo precyzyjna ocena, jaki konkretny rodzaj guza prezentuje obserwowana zmiana [13]. Dotyczy to na przykład torbieli endometrialnych, potworniaków, wodniaków lub ropni jajowodu, torbieli krwotocznych lub przyjajnikowych czy też mięśniaków uszypułowanych. Ocena subiektywna

jest uznana za metodę przewyższającą pod względem parametrów prognostycznych stosowane modele matematyczne [42] czy takie narzędzia, jak RMI czy ROMA [43].

Jednym z elementów projektu habilitacyjnego była ocena wyników fałszywie negatywnych subiektywnej oceny ultrasonograficznej guzów przydatków (Publikacja III) [44]. Wyniki takie są szczególnie istotne dla diagnozowanych pacjentek i zespołu lekarzy podejmujących się leczenia rozpoznanych zmian w obrębie jajników. Wyniki fałszywie negatywne dotyczą tych sytuacji, w których klinicysta na podstawie swojego doświadczenia i oceny obrazu ultrasonograficznego określa guz jako *na pewno niezłośliwy* lub *prawdopodobnie niezłośliwy*, a badanie histopatologiczne potwierdza guz złośliwy lub nowotwór o granicznej złośliwości. Taki wynik ultrasonografii może skutkować nieprawidłową kwalifikacją pacjentki do postępowania wycieczającego lub nieprawidłowym podejściem operacyjnym i w końcu przeprowadzeniem operacji przez osobę niegwarantującą najlepszych wyników leczenia w nieoptymalnym ośrodku leczniczym. Jednym z elementów przeprowadzonej analizy była również ocena wpływu statusu menopauzalnego na ryzyko uzyskania wyniku fałszywie negatywnego ultrasonograficznej oceny subiektywnej.

W wyniku badania w grupie 318 kobiet wykazano, że ocena subiektywna istotnie jest narzędziem bardzo precyzyjnym i osiąga wysokie wartości czułości, swoistości i dokładności, odpowiednio 95,6%, 86,3% i 89%. Wykazano, że w grupie guzów zakwalifikowanych jako *na pewno niezłośliwe* nie było wyników fałszywie negatywnych. Istniały jednak przypadki zarówno w grupie kobiet przed menopauzą, jak i pacjentek po menopauzie, gdzie guzy zakwalifikowane jako *prawdopodobnie niezłośliwe* okazały się ostatecznie guzami złośliwymi lub o granicznej złośliwości. Odsetek tych wyników u kobiet po menopauzie wynosił 1,6%, a u kobiet przed menopauzą 2,2%. W przeprowadzonych badaniach guzy przydatków oceniano również w skali morfologicznej i dopplerowskiej oraz analizowano poziom markera Ca125. Informacje uzyskane na tej drodze pozwoliły w niektórych przypadkach nabrać większego podejrzenia odnośnie badanych zmian niż jedynie w wyniku ultrasonograficznej oceny subiektywnej. Jak wspomniano wcześniej, szczególnie indeksy morfologiczne cechuje wysoka czułość – niestety kosztem swoistości tego narzędzia. Opinie literaturowe dotyczące wpływu dodatkowych badań diagnostycznych uzupełniających ocenę ultrasonograficzną nie są jednoznaczne. Smoleń i wsp. uważają, że kombinacja oceny ultrasonograficznej i badania markera Ca125 poprawia precyzję diagnostyczną [45]. Natomiast Valentin i wsp. uważają, że dodanie informacji o poziomie stężenia Ca125 nie poprawia dokładności diagnostycznej badania ultrasonograficznego guzów w obrębie przydatków [46].

W literaturze podkreśla się, że ryzyko procesu złośliwego w zmianach uważanych za niezłośliwe, na przykład w gładkościennych, bezechowych torbielach, jest ekstremalnie niskie i zawiera się w przedziale od 0 do 0,3% [20, 47, 48]. Zmiany *prawdopodobnie niezłośliwe* też charakteryzują się niskim odsetkiem wyników fałszywie negatywnych, niemniej w przeprowadzonych badaniach wykazano takie przypadki, co dostarcza dodatkowej wiedzy na temat ultrasonograficznej oceny guzów jajnika.

Wnioskiem z przeprowadzonych badań jest stwierdzenie, że subiektywna ocena ultrasonograficzna guzów przydatków jest narzędziem bardzo precyzyjnym, ale nawet w grupie guzów uznanych za „niezłośliwe”, zarówno u kobiet przed menopauzą, jak i po menopauzie, mogą znaleźć się nowotwory złośliwe. Nieznacznie częściej sytuacja taka dotyczy kobiet przed menopauzą. Wiąże się to z koniecznością poszerzania procesu diagnostycznego, szczególnie gdy inne dostępne metody mogą poprawić jakość przedoperacyjnej oceny guza.

#### **4.4. Zastosowanie regresji logistycznej i sztucznych sieci neuronowych w diagnostyce guzów jajnika (Publikacja IV)**

W diagnostyce guzów jajnika istnieje możliwość pozyskania znacznej ilości dostępnych danych wynikających z przeprowadzonych licznych testów diagnostycznych. Mnogość informacji stanowi niejednokrotnie problem dla klinicysty, gdyż właściwa ocena tej złożonej informacji nie jest prosta. Jednym z rozwiązań tego problemu jest wykorzystanie zaawansowanych metod matematycznej analizy danych w celu wyłonienia z dostępnej ilości informacji wiadomości o tych cechach, które istotnie wpływają na możliwość prognozowania charakteru badanego guza. Jednym z pierwszych badań na temat zastosowania zaawansowanych metod analizy danych w diagnostyce guzów jajnika były prace dotyczące wykorzystania teorii zbiorów przybliżonych stanowiące tezy rozprawy doktorskiej autora tego projektu[32]. To nowoczesne podejście do problemu wieloczynnikowej analizy danych dotyczących pacjentek z guzami jajnika polega na traktowaniu informacji jako elementów zbiorów, z których jeden zawiera pacjentki z guzami złośliwymi, a drugi pacjentki z guzami niezłośliwymi. Istnieje jednak pewna „rozmyta” strefa analizowanych obiektów – wtedy nie mamy pewności, do którego zbioru należy dany przypadek zaklasyfikować. Analiza matematyczna oparta właśnie na teorii zbiorów przybliżonych pozwala wydobyć istotną informację z analizowanych danych i wspomóc decyzję odnośnie dalszego postępowania w procesie diagnostyczno-terapeutycznym. Analiza przy użyciu zbiorów przybliżonych pozwoliła nam wyłonić rdzeń najistotniejszych cech pacjentek z guzami jajnika, stworzyć reguły decyzyjne w diagnostyce guzów jajnika i przedstawić charakterystyczne modele pacjentek w poszczególnych analizowanych grupach kobiet [49, 50].

Kolejne doświadczenia dotyczyły zastosowania regresji logistycznej i sztucznych sieci neuronowych. Istotnym wydaje się sprawdzenie, czy nowoczesne metody analizy danych są w stanie pomóc w trudnym procesie diagnostycznym pacjentek z ryzykiem wystąpienia raka jajnika.

Analiza przydatności regresji logistycznej w ocenie czynników mogących mieć wpływ na prognozowanie charakteru rozpoznanych guzów w obrębie przydatków była również prowadzona w naszym ośrodku [30]. Analizie poddano dużą grupę pacjentek (686 przypadków), wśród których 255 (37,2%) prezentowało guzy złośliwe w badaniu ostatecznym materiału pooperacyjnego. Dostępne dane obejmowały informacje z wywiadu, badania ginekologicznego, badania ultrasonograficznego, oceny dopplerowskiej przepływów krwi w guzie oraz oceny

stężenia markerów biochemicznych Ca125 i TPS. Wykorzystano metodę stopniowej regresji logistycznej, uzyskując modele prognostyczne dla całej grupy pacjentek oraz oddzielnie dla kobiet przed menopauzą i dla pacjentek po menopauzie oraz model dla grupy kobiet we wczesnym stopniu zaawansowania klinicznego choroby (FIGO I lub II). Najwyższą czułość i swoistość dla modelu predykcyjnego uzyskano w całej grupie badanych kobiet, w której wartości te wynosiły odpowiednio 87,8% i 93,7%. W wyniku analizy opartej na regresji logistycznej z licznej grupy atrybutów dostępnych badaniu w wyspecjalizowanym ośrodku ginekologii onkologicznej wyłoniono osiem istotnych czynników, które mają znaczenie w ocenie ryzyka złośliwości na podstawie stworzonego modelu diagnostycznego. Są nimi: wiek, obecność przegród w guzie, obustronne występowanie zmian, obecność wolnego płynu w zatoce Douglasa, obecność elementu litego w guzie, centralna lokalizacja naczyń krwionośnych, wartość PI oraz MEDV. Modele stworzone dla kobiet przed menopauzą i po menopauzie oraz dla wczesnych stopni zaawansowania klinicznego choroby dotyczyły podobnych elementów, a ponadto ograniczały się do 5–7 spośród nich. Nie wykazano istotnych statystycznie różnic pomiędzy jakością diagnostyczną stworzonych modeli w poszczególnych grupach na podstawie analizy pola powierzchni pod krzywą ROC. Ponadto przeprowadzono ocenę prospektywną stworzonych modeli na nowej grupie pacjentek i uzyskano wysokie wartości wskaźników prognostycznych, czułość i swoistość na poziomie odpowiednio: 91,7% i 92,5%. Ważnym elementem przeprowadzonych badań jest fakt, że znaczna grupa (37%, 255/686) analizowanych zmian okazała się nowotworem złośliwym oraz to, że istotną grupę (41%, 106/255) nowotworów złośliwych stanowiły guzy u pacjentek we wczesnym stopniu zaawansowania klinicznego choroby.

Podobny problem rozważali Jacobs i wsp. W wyniku prac tego zespołu powstał indeks złośliwości określany jako RMI [51]. Spośród pięciu analizowanych w ocenie złośliwości czynników wyłoniono trzy, które w istotny sposób wpływały na jakość klasyfikacji guzów. Były to: status menopauzalny, ocena ultrasonograficzna i poziom markera Ca125. Czułość i swoistość tego modelu wynosiły odpowiednio: 85% i 97%.

Innym badaniem dotyczącym tego problemu była praca Alcazara i wsp., w której analizowano status menopauzalny, ocenę morfologiczną guza według skali Sassone oraz ocenę przepływów krwi w naczyniach badanej zmiany w miednicy mniejszej. Wykazano, że głównymi czynnikami prognostycznymi są ocena morfologii guza i ocena przepływów krwi w badanej ultrasonograficznie zmianie.

Istotnym odkryciem wynikającym z przeprowadzonej analizy danych jest fakt, że uwidocznienie centralnego unaczynienia guza zwiększa ryzyko złośliwości 11 razy. Wykazanie elementu litego zwiększa ryzyko niespełna 10 razy. Obustronne występowanie guzów jest związane z czterokrotnym wzrostem ryzyka nowotworu złośliwego, a uwidocznienie grubych przegród powyżej 3 mm lub wolnego płynu w jamie otrzewnowej zwiększa to ryzyko trzykrotnie [30].

Wnioskiem z przeprowadzonych badań jest stwierdzenie, że ocena na podstawie analizy regresji logistycznej jest bardziej precyzyjna niż ocena poszczególnych pojedynczych czynni-

ków ryzyka raka jajnika. Ocena prospektywna potwierdza przydatność stworzonego modelu z wysokimi parametrami wartości prognostycznych.

Kolejnym aspektem projektu habilitacyjnego było porównanie wartości prognostycznej modelu opartego na analizie regresji logistycznej i sztucznych sieci neuronowych (Publikacja IV) [52]. Przeanalizowano tę samą co w przywołanej wyżej pracy grupę 686 pacjentek z guzem jajnika. Dostępne dane poddano analizie opartej na regresji logistycznej, jak również na teorii sieci neuronalnych. Celem badań była próba wyznaczenia indywidualnego prawdopodobieństwa ryzyka procesu złośliwego u badanych kobiet na podstawie wykorzystanych modeli diagnostycznych. Do analizy włączono ponownie znaczną ilość dostępnych informacji zebranych w trakcie badania podmiotowego i przedmiotowego, ocenę ultrasonograficzną, również z wykorzystaniem technik dopplerowskich, i ocenę biochemicznych markerów nowotworowych (Ca125 i TPS). Przeprowadzono analizę opartą na regresji logistycznej i sztucznych sieciach neuronowych. Zbiór pacjentek w analizie sieci neuronowych został podzielony na podzbiory: uczący, walidacyjny i testowy. Użyteczność ocenianych modeli porównano za pomocą krzywych ROC i pola pod tymi krzywymi. W badaniach tych sprawdzono prospektywnie skuteczność analizowanych modeli w grupie 100 nowych przypadków diagnozowanych w naszym ośrodku.

Regresja logistyczna wyłoniła osiem istotnych czynników prognostycznych, które wykorzystano do stworzenia modelu diagnostycznego. Na tym etapie badań przyjęto 75% ryzyko procesu złośliwego i dla tego poziomu stworzony model uzyskał czułość 80,5% oraz swoistość 89,2%.

Trzywarstwowa sieć neuronalna, która okazała się najlepiej klasyfikująca, posiadała 13 neuronów wejściowych oraz 9 w strefie ukrytej. W wyniku analizy opartej na sieciach neuronowych cechami, które okazały się istotne w diagnozowaniu guzów jajnika, były: wiek, status menopauzalny, maksymalny wymiar guza, wewnętrzna struktura ściany guza, obecność przegrody, obustronne występowanie guzów, element lity, lokalizacja naczyń krwionośnych oraz wskaźniki przepływu: RI, PI, PSV, TAMXV i MEDV. Dla poziomu 75% ryzyka procesu złośliwego stworzony model uzyskał czułość 90,3% i swoistość 93,3%.

Wnioskiem z przeprowadzonego porównania modeli prognostycznych jest spostrzeżenie, że model stworzony na podstawie teorii sztucznych sieci neuronowych jest lepszy i precyzyjniej różnicuje badane zmiany w obrębie przydatków. Niemniej porównanie pól powierzchni pod krzywą ROC nie wykazało istotnych statystycznie różnic pomiędzy tymi metodami. W badaniach prospektywnych stworzone modele wykazały również wysokie wartości prognostyczne [52].

Jednym z istotniejszych wniosków wynikających z przeprowadzonego porównania jest fakt, że dwie różne metody matematyczne wykazały istotność podobnych cech guzów przydatków możliwych do oceny przedoperacyjnej. Model oparty na sieciach neuronowych pokazał, że wszystkie cechy ważne w analizie regresji logistycznej, za wyjątkiem wodobrzusza, są ważne i zakwalifikował do tej grupy ponadto status menopauzalny, maksymalny wymiar guza, charakter wewnętrznej powierzchni ściany guza i wskaźniki przepływu. Co ciekawe – oba modele nie wykazały, że analiza poziomów surowiczych markerów nowotworowych Ca125 i TPS jest

istotna. Podobne wyniki uzyskano w innych dostępnych badaniach naukowych na ten temat [29, 53].

#### 4.5. Wyniki oceny stężeń biochemicznych markerów angiogenezy

Proces tworzenia nowych naczyń krwionośnych w obrębie guzów nowotworowych znalazł już udokumentowane potwierdzenie swojej istotności w procesie nowotworzenia, w przemianie zmian przednowotworowych do w pełni złośliwych, w procesie promocji i migracji komórek nowotworowych oraz inwazji i powstawania przerzutów. Ocena markerów angiogenezy stanowi obecnie obiecujące pole w poszukiwaniu metod diagnostycznych, jak również obszarów działania leków antyangiogennych. Głównymi obszarami zainteresowania są czynniki proangiogenne oraz antyangiogenne. Dotychczas rozpoznano co najmniej 30 różnych czynników, zarówno pobudzających, jak i hamujących wzrost naczyń. Do najważniejszych czynników promujących angiogenezę zalicza się: naczyniowo-śródbłonkowy czynnik wzrostu naczyń (VEGF), zasadowe i kwaśne czynniki wzrostu fibroblastów (FGF), transformujący czynnik wzrostu (TGF), metaloproteinazę-2 i metaloproteinazę-9 (MMP-2, MMP-9) oraz interleukinę-8 (IL-8). W grupie czynników antyangiogennych znajdują się: angiostatyna, endostatyna, trombospondyna, rodzina białek zwanych tkankowymi inhibitorami metaloproteinaz (TIMP) oraz niektóre interleukiny, takie jak: IL-1, IL-6, IL-10, IL-12. Złożone współoddziaływanie czynników pro- i antyangiogennych oraz zaburzenie wzajemnej homeostazy mogą mieć istotne znaczenie w biologii procesu nowotworowego. Istotnym momentem przesuającym równowagę w kierunku neoangiogenezy jest zmiana fenotypu angiogenetycznego części komórek nowotworu, tzw. *angiogenic switch*. Przewagę zyskują wówczas miejscowe czynniki stymulujące angiogenezę.

Badania Di Blasio i wsp. potwierdzają, że zasadowy czynnik wzrostu fibroblastów (bFGF) indukuje proliferację, migrację i proteolityczną aktywność komórek śródbłonkowych [54]. Inny czynnik, taki jak interleukina-8, aktywuje neutrofile w regionie zapalnym, wykazując przy tym silne działanie proangiogenne. Również niektóre metaloproteinazy (MMP) są odpowiedzialne za degradację macierzy pozakomórkowej, co ma istotne znaczenie w procesie angiogenezy.

VEGF stymuluje między innymi proliferację komórek śródbłonkowych oraz zwiększa dokonywaną przez nie produkcję aktywatora plazminogenu. Udowodniono, że stężenie czynników pro- i antyangiogennych odgrywa istotną rolę w biologii nowotworów złośliwych jajnika. Jest to związane z przebiegiem choroby, jej postępem oraz rokowaniem u kobiet z rozpoznanym rakiem jajnika.

W analizie czynników angiogennych przyjmuje się, że ekspresja bFGF jest wprost proporcjonalna do rozwoju guza, stężenie VEGF jest bezpośrednio związane z rozwojem wodobrzusza, a ekspresja interleukiny-8 jest odwrotnie proporcjonalna do szansy na przeżycie pacjentek z rakiem jajnika. W odniesieniu do IL-8 wykazano również, że ma ona bezpośredni wpływ na zintensyfikowanie aktywności guza i może działać jako autokrynnny czynnik wzrostu w raku jajnika [55]. Wzajemne oddziaływanie czynników angiogenezy warunkuje wzrost i progresję

raka. Istotne znaczenie ma również hypoksja, która promuje rozwój procesów złośliwych – przez modyfikację aktywności genów kodujących białka regulatorowe cyklu komórkowego, białka regulujące angiogenezę, enzymy oraz czynniki transkrypcyjne [56].

Angiogeneza ma również endogenne czynniki hamujące, takie jak trombospondyna – TSP-1. Uważa się, że synteza tego białka jest regulowana przez białko TP-53. Wraz ze zmniejszaniem się stężenia TP-53 obniża się również ilość trombospondyny. Nabłonek naczyń krwionośnych w bezpośredniej okolicy guza zaczyna się wówczas dzielić, formując sieć naczyń przenikających zmianę nowotworową. W obrębie guza może w ten sposób zadziałać mechanizm promujący powstawanie nowych patologicznych naczyń krwionośnych, polegający na zablokowaniu aktywności w niektórych guzach istotnych inhibitorów angiogenezy. W takiej sytuacji proces nowotworowy rozwija się i w miarę wzrostu guza staje się on klinicznie wykrywalny. Również rozsiew nowotworowy możliwy jest głównie w obszarach o dużej gęstości drobnych naczyń.

#### **4.5.1. Zasadowy czynnik wzrostu fibroblastów – bFGF (Publikacja V)**

Jednym z elementów nowoczesnej diagnostyki skierowanej na wczesne wykrywanie zmian nowotworowych w obrębie przydatków jest poszukiwanie nowych markerów biochemicznych, których oznaczenie w surowicy miałoby wpływ na prognozowanie istnienia procesu złośliwego. Jak dotychczas nie znaleziono markera wystarczająco czułego ani odpowiednio swoistego. Jak przedstawiono powyżej, proces nowotworzenia związany jest nierozdzielnie ze zjawiskiem neoangiogenezy, czyli z powstawaniem nowych, patologicznych naczyń krwionośnych odżywiających guz nowotworowy. Istnieje wiele czynników proangiogennych oraz antyangiogennych. Czynniki te mogą stanowić marker procesu złośliwego, a także mogą być punktem wyjścia dla terapii, która miałaby za zadanie blokowanie rozwoju nowych naczyń krwionośnych w obrębie guza i przez to pomagałaby w leczeniu nowotworów złośliwych jajnika.

Jednym z elementów projektu habilitacyjnego była ocena wartości diagnostycznej stężenia bFGF w surowicy pacjentek z guzami jajnika jako markera procesu złośliwego oraz markera procesu neoangiogenezy (Publikacja V) [57]. Ponadto przeanalizowano stężenie tego parametru w zależności od ostatecznego rozpoznania histopatologicznego oraz stopnia zaawansowania choroby według FIGO. Zasadowy czynnik wzrostu fibroblastów (bFGF) jest pierwszym poznany czynnikiem angiogennym w grupie liczącej dziś 23 białka rodziny FGF. Aktywność tego białka związana jest z obecnością specyficznych receptorów dla FGF. Czynnik bFGF reguluje proces angiogenezy niemal na wszystkich jej etapach [58]. Pobudzenie receptorów FGF powoduje proliferację komórek śródbłonna, ich migrację oraz tworzenie struktur przypominających kapilary; bFGF umożliwia również proces naciekania i tworzenia przerzutów przez degenerację przestrzeni pozakomórkowej i indukcję ekspresji metaloproteinaz. W procesie naczyniotworzenia bFGF współdziała z najlepiej poznany czynnikiem tego typu – VEGF [58].

Nasze badania dotyczyły oceny stężenia bFGF w surowicy kobiet z guzami jajnika. Wykazano, że poziom bFGF jest wyższy u pacjentek z guzami złośliwymi oraz że istotnie koreluje on ze stopniem zaawansowania klinicznego choroby. Niemniej wartości prognostyczne tego

testu nie są wysokie. Dla poziomu odcięcia równego około 60 pg/ml czułość testu wynosiła zaledwie 47%, swoistość – 93%, a dokładność – 80%. Pole powierzchni pod krzywą ROC wynosiło 0,647. W zakresie czułości i dokładności były to wyniki niższe niż uzyskane w analizie poziomu Ca125. Czynniki bFGF prezentował natomiast znacznie wyższą swoistość i negatywną wartość predykcyjną.

Wnioskiem z przeprowadzonych badań klinicznych jest stwierdzenie, że stężenie bFGF w surowicy kobiet z guzami złośliwymi jajnika jest wyższe, szczególnie w zaawansowanych przypadkach tej choroby. Czynniki bFGF może być uzupełnieniem diagnostyki przedoperacyjnej kobiet z podejrzeniem nowotworu złośliwego jajnika, niemniej nie jest to marker, który pozwala na jednoznaczne oszacowanie ryzyka procesu złośliwego.

#### 4.5.2. Endotelina-1 (Publikacja VI)

Endotelina-1 (ET-1) jest dość dobrze poznanym czynnikiem odgrywającym ważną rolę w procesie krążenia oraz wpływającym na stan naczyń krwionośnych. W ciągu ostatnich kilkunastu lat białko to badane było również pod względem swojej roli w procesie nowotworzenia. Szerokie badania prowadzone są między innymi przez zespół Bagnato i wsp., którzy wykazali, że ET-1 jest produkowana przez 90% pierwotnych raków jajnika i nawet 100% raków przerzutowych [59]. Endotelina-1 odgrywa wieloczynnikową rolę w procesie wzrostu i progresji nowotworów: wpływa między innymi na proliferację komórek przez aktywację kinazy MAP przez swój receptor typu A ( $ET_A R$ ) i transaktywację receptora dla EGF, stymuluje angiogenezę oraz hamuje apoptozę. Wykazano, że endotelina-1 wspiera proces angiogenezy także w raku jajnika. Wpływa ona między innymi na ekspresję VEGF [60]. Poza tym ET-1 również bezpośrednio wpływa na proces tworzenia nowych naczyń przez stymulację komórek endotelium i komórek naczyniowych mięśni gładkich. Wykazano silny związek ET-1 i intensywności unaczynienia w obrazie gęstości mikronaczyń – MVD – badanych za pomocą CD-31 [61]. Poza tym endotelina-1 zwiększa możliwości inwazji komórek nowotworowych w mechanizmie tzw. EMT (*epithelial-to-mesenchymal transition*). Jest to złożony proces, który polega na zmianie charakteru komórek z nabłonkowych na mezenchymalne, przez co tracą one właściwości adhezyjne i nabierają większej mobilności, co z kolei związane jest z szerzeniem się nowotworu i powstawaniem przerzutów. Wykazano również, że ET-1 zwiększa ekspresję metaloproteinaz, przez co promuje zdolność do inwazji i powstawania przerzutów [62]. Obecnie szczególnie interesująca jest rola osi pomiędzy endoteliną-1 a jej efektorami. Endotelina-1 przez pobudzenie swoich receptorów wpływa istotnie na zależne od tej aktywacji kolejne elementy szlaku przekazywanego sygnału, takie jak  $\beta$ -arrestin-1 i  $\beta$ -catenina [63, 64]. Znajduje to zastosowanie w badaniach nad specyficznymi blokerami dla receptorów ET-1:  $ET_A R$  i  $ET_B R$ , które mogą odgrywać niebagatelną rolę we wspomaganiu leczenia pacjentek z rakiem jajnika [65].

Celem badań będących jednym z elementów projektu habilitacyjnego była ocena surowiczego poziomu endoteliny-1 u kobiet z guzami jajnika (Publikacja VI) [66]. Porównano poziomy endoteliny-1 w zależności od charakteru złośliwości guza, a ponadto przeanalizowano te

poziomy w zależności od konkretnego typu histopatologicznego guza, od stopnia zaawansowania choroby w grupie nowotworów złośliwych oraz od wielkości guza. Biorąc pod uwagę istotne znaczenie badanego białka w procesie unaczynienia guza, zbadano również parametry przepływu krwi w guzie (PI, RI i PSV) i skorelowano je z poziomem ET-1.

W wyniku przeprowadzonej analizy wykazano, że poziom endoteliny-1 jest istotnie statystycznie wyższy u kobiet z nowotworami złośliwymi. Potwierdziło to wcześniejsze doniesienia na ten temat, jednak w naszych badaniach po raz pierwszy potraktowano ET-1 jako biomarker mogący mieć znaczenie w prognozowaniu charakteru złośliwości guza jajnika. Parametry prognostyczne tego testu nie różnią się istotnie od tych uzyskanych w wyniku oceny Ca125. Jedyna teoretyczna przewaga ET-1 nad powszechnie wykorzystywanym Ca125 polega na tym, że nie wykazano związku jej poziomu z typem histopatologicznym i wielkością guza oraz stopniem zaawansowania choroby, co jest dość znacznym ograniczeniem Ca125. ET-1 dostarcza równie precyzyjnej informacji o małych guzach, we wczesnym stopniu zaawansowania, we wszystkich zbadanych typach histopatologicznych. Marker ten jest tym samym mniej wrażliwy na ryzyko wyniku fałszywie ujemnego spowodowanego istnieniem małego guza o niesurowiczym charakterze, w którego przypadku poziom Ca125 jest najczęściej niepodwyższony. Innym ważnym wynikiem przeprowadzonych badań jest fakt wysokiej – na poziomie 95% – specyficzności oceny ET-1. Wykazano również korelację między poziomem ET-1 a parametrami przepływu krwi RI i PSV. Patologiczny przepływ niskooporowy o wysokiej prędkości korelował w sposób istotny statystycznie z poziomem ET-1.

Wnioski wynikające z tej części przeprowadzonych badań pozwalają stwierdzić, że endotelina-1 nie przewyższa swoimi możliwościami diagnostycznymi Ca125, niemniej ma cechy, które pozwalają na lepsze diagnozowanie niektórych nowotworów złośliwych jajnika. Poziom ET-1 koreluje ze wskaźnikami przepływu krwi i w tej dziedzinie stanowi ważny element biochemiczny umożliwiający ocenę ryzyka istnienia patologicznej sieci naczyń charakterystycznej dla nowotworów złośliwych. Wykazano, że białko to ma znaczenie nie tylko w procesach terapeutycznych, ale również w poznaniu procesów charakteryzujących rozwój nowotworu złośliwego jajnika oraz w możliwościach prognozowania jego złośliwości.

## 4.6. Ocena stężenia markerów biochemicznych

### 4.6.1. Osteopontyna

Poszukiwania czułych i swoistych markerów typowych dla nowotworów złośliwych jajnika dają wciąż nadzieję na odkrycie wygodnego i precyzyjnego narzędzia w diagnostyce przedoperacyjnej tych zmian, szczególnie dla klinicystów mniej doświadczonych w dziedzinie ultrasonografii. Jednym z kandydatów, który może posłużyć do skutecznego prognozowania, jest osteopontyna (OPN). Fizjologicznie ta glikoproteina jest wydzielana przez osteoblasty, komórki nabłonka różnych narządów oraz aktywowane limfocyty T, makrofagi i leukocyty [67]. Osteopontyna jest też ściśle związana z rozwojem i progresją raka jajnika [68]. Kilka lat temu wykazano, że OPN promuje wzrost raka jajnika zarówno *in vitro*, jak i *in vivo* oraz zwiększa odporność komórek raka przez aktywację drogi PI3K/Akt/HIF-1 $\alpha$  [68]. Wzrost syntezy HIF-1 $\alpha$  jest też związany z promocją neoangiogenezy w obrębie guza [69]. Wykazano również, że jedna z form osteopontyny – OPN-c – bierze udział w zwiększeniu proliferacji, migracji i inwazji komórek raka jajnika [70]. Istnieją doniesienia, że u pacjentek z rakiem jajnika podwyższone stężenie OPN koreluje z gorszym rokowaniem [71]. Wykazano również korelację między podwyższonym stężeniem osteopontyny a stopniem zaawansowania klinicznego choroby, stopniem złośliwości histologicznej i obecnością przerzutów do węzłów chłonnych [72]. Niemniej istnieje niewiele doniesień na temat przydatności tej substancji jako markera raka jajnika wykorzystywanego w diagnostyce przedoperacyjnej [73].

Badania prowadzone w naszym ośrodku dotyczyły oceny przydatności analizy stężenia surowiczego osteopontyny jako markera procesu złośliwego w obrębie przydatków. Ponadto porównano stężenie OPN z innymi metodami diagnostycznymi, takimi jak: subiektywna ocena ultrasonograficzna, indeksy morfologiczne i indeksy unaczynienia, ocena GI-RADS (*Gynecologic Imaging Reporting and Data System*) oraz poziomem markera Ca125. Przeanalizowano również za pomocą precyzyjnego narzędzia matematycznego – NRI – czy dodanie oceny markerów: OPN lub Ca125 poprawia jakość diagnostyczną wyżej wymienionych metod diagnostycznych [74].

W wyniku przeprowadzonych badań wykazano, że stężenie OPN w surowicy kobiet z nowotworem złośliwym jajnika jest istotnie statystycznie wyższe niż u pacjentek z guzami niezłośliwymi. Za pomocą krzywej ROC wyznaczono najlepszy punkt odcięcia w diagnostyce przedoperacyjnej dla osteopontyny, który wynosi 28 ng/ml.

Podobne wyniki uzyskano dla Ca125. Niemniej na podstawie analizy badanej grupy kobiet wyznaczono najlepszy punkt odcięcia dla tego markera, który wynosił 100 IU/ml, czyli zdecydowanie więcej niż ogólnie przyjęta norma 35 IU/ml.

Porównując pola powierzchni pod krzywą ROC, nie wykazano istotnych statystycznie różnic w mocy diagnostycznej pomiędzy osteopontyną a Ca125. Wykazano również istotną pozytywną korelację pomiędzy tymi dwoma markerami. Wyniki te potwierdziły się także

w sytuacji, gdy analizowano dane oddzielnie dla pacjentek przed menopauzą i po menopauzie. Ponadto nie wykazano istotnych statystycznie różnic pomiędzy analizowanymi markerami a metodami ultrasonograficznej oceny guza. Najwyższe pole pod krzywą ROC uzyskała subiektywna ocena ultrasonograficzna [74].

Zastosowanie metody oceny NRI, która dostarcza precyzyjnej informacji, czy dodanie kolejnego testu diagnostycznego poprawia jakość diagnostyczną, wykazało, że zarówno OPN, jak i Ca125 nie przynoszą takiej korzyści. Ponadto dodanie informacji wynikającej z oceny stężenia Ca125 przy poziomie odcięcia 35 IU/ml istotnie pogarsza jakość diagnostyczną oceny subiektywnej oraz GI-RADS.

Wykazano, że poziom OPN koreluje ze stopniem zaawansowania klinicznego choroby. Nie wykazano istotnych statystycznie różnic w poziomie OPN dla śluzowych i nieśluzowych złośliwych nowotworów jajnika, co znacząco odróżnia ten marker od Ca125. Wykazano również, że poziom OPN jest istotnie statystycznie niższy u pacjentek z torbielami endometrialnymi niż u tych z innymi guzami niezłośliwymi – w przeciwieństwie do Ca125, którego poziom u pacjentek z guzami endometrialnymi był istotnie statystycznie wyższy. Na tej podstawie zastosowano ocenę stosunku OPN/Ca125 i wykazano, że jest on istotnie statystycznie niższy u pacjentek z guzami endometrialnymi niż u pacjentek z innymi guzami niezłośliwymi oraz złośliwymi.

Wnioskiem z przeprowadzonych badań jest fakt, że wszystkie analizowane metody na podobnym poziomie różnicują guzy złośliwe i niezłośliwe jajnika. Każda z tych metod ma pewne ograniczenia wynikające np. z konieczności posiadania dużego doświadczenia w przypadku oceny subiektywnej czy GI-RADS, konieczności precyzyjnego przestrzegania zasad ultrasonograficznej oceny guzów w przypadku indeksów morfologicznych lub dopplerowskich. Ocena markerów w surowicy krwi jest stosunkowo wygodna zwłaszcza dla mniej doświadczonych klinicystów, lecz niestety wartości prognostyczne wynikające z zastosowania tej oceny są w niektórych przypadkach stosunkowo niskie. Szczególnie Ca125 charakteryzuje się wynikami fałszywie ujemnymi, np. w przypadku raków śluzowych, lub fałszywie dodatnimi, np. w przypadku torbieli endometrialnych. Osteopontyna jest stosunkowo odporna na tego typu wyniki fałszywe.

Wykazano również, że dodanie oceny zarówno OPN, jak i Ca125 nie poprawia jakości diagnostycznej testów opartych na metodach ultrasonograficznych. Właściwość tę potwierdzają również inni autorzy, między innymi Valentin i wsp., którzy ocenę stężenia markerów widzą raczej jako test pierwszego rzutu, a nie uzupełnienie oceny ultrasonograficznej [46].

#### **4.6.2. HE4 (Publikacja VII)**

Problem znalezienia odpowiedniego markera biochemicznego skutecznego w diagnostyce raka jajnika pozostaje wciąż otwarty. Oceniono wiele substancji, których poziom w surowicy kobiet z rakiem jajnika istotnie różni się od poziomu tych substancji w surowicy kobiet zdrowych lub kobiet z guzami niezłośliwymi, ale jak dotąd nie znaleziono idealnego markera, który mógłby

odegrać decydującą rolę w procesie diagnostycznym. Większość tych substancji sprawdza się bardziej w procesie monitorowania efektów leczenia lub wykrywania wznowy procesu chorobowego. W ostatnich latach jednym z bardziej obiecujących markerów jest HE4, który opisany został po raz pierwszy w roku 2003; zaproponowano, by został użyty jako test pierwszego rzutu lub jako test uzupełniający w diagnostyce raka jajnika oraz jako narzędzie monitorujące efekty leczenia tej choroby [75]. Proteina ta jest prekursorem białka wydzielanego przez najądrza (*human epididymal secretory protein E4*) i obecnie wydaje się najbardziej obiecującym czynnikiem mogącym poprawić jakość diagnostyczną opartą na analizie markerów biochemicznych w diagnostyce raka jajnika. Uważa się, że jest to białko bardziej specyficzne niż Ca125 oraz że możliwe jest uzyskanie korzyści diagnostycznej, jeśli połączy się ocenę HE4 i Ca125 w diagnostyce przedoperacyjnej pacjentek z guzami przydatków.

Kolejnym elementem projektu habilitacyjnego była ocena przydatności analizy stężenia HE4 w surowicy kobiet z guzami jajnika, które prezentują trudność diagnostyczną w ocenie ultrasonograficznej (Publikacja VII) [76]. Właśnie ta grupa guzów była głównym obszarem zainteresowania z uwagi na istotę problemu różnicowania guzów, które stanowią problem w badaniu obrazowym. Nie jest bowiem specjalną trudnością kliniczną rozpoznać guz w wysokim stopniu zaawansowania klinicznego, który wypełnia często całą miednicę mniejszą lub nawet całą jamę brzuszną. W tych przypadkach decyzja o laparotomii w ośrodku zajmującym się ginekologią onkologiczną jest oczywista. Z drugiej strony w obrębie przydatków istnieje wiele zmian, o których na podstawie badania ultrasonograficznego można powiedzieć z prawdopodobieństwem graniczącym z pewnością, że są to zmiany niezłośliwe lub wręcz czynnościowe, które nie wymagają agresywnego leczenia, mogą być przez trzy miesiące obserwowane w nadziei na samoistną resorpcję lub ewentualnie leczone metodami minimalnej inwazji. Najbardziej istotną grupą guzów jajnika są te z nich, które w badaniu ultrasonograficznym stanowią całkowitą zagadkę – nie można określić ich charakteru złośliwości. Według Valentin i wsp. grupa ta stanowi od 7% do 10% guzów jajnika [77]. Badania przeprowadzone w naszym ośrodku dotyczyły nieco szerszej grupy guzów, albowiem poza guzami całkowicie nierozróżnialnymi do grupy trudnych diagnostycznie guzów jajnika włączono te, które w ocenie ultrasonograficznej określono jako *prawdopodobnie złośliwe* lub *prawdopodobnie niezłośliwe*. Z badania wyłączono natomiast te zmiany, które w ocenie ultrasonograficznej określono jako *na pewno złośliwe* lub *na pewno niezłośliwe*, zgodnie z wyżej przedstawionymi zasadami grupy IOTA dotyczącymi subiektywnej ultrasonograficznej oceny guzów jajnika [35]. W ocenie przydatności HE4 w diagnostyce guzów jajnika wykorzystano również analizę NRI, która dostarcza informacji, czy dodanie badanego testu do istniejącego narzędzia diagnostycznego poprawia, czy pogarsza jakość diagnostyczną.

Wykazano istotne statystycznie różnice w poziomie HE4 u pacjentek z guzami złośliwymi i niezłośliwymi jajnika. Wykazano również, że dla guzów o granicznej złośliwości i guzów niezłośliwych różnice poziomu surowiczego HE4 nie są istotne statystycznie. Podobne wyniki uzyskano dla Ca125. Nie wykazano różnicy pomiędzy tymi markerami, analizując pole

powierzchni pod krzywą ROC. Najlepszym punktem odcięcia wynikającym z analizy badanej grupy dla HE4 okazał się poziom 65 pmol/l, co oczywiście jest informacją obarczoną zastrzeżeniem, że ze względu na liczebność badanej grupy trudno przedstawić uogólnione rekomendacje dotyczące tego aspektu. HE4 wykazało wyższą swoistość i dokładność oraz pozytywną wartość predykcijną niż Ca125. Szczególnie różnice te widoczne są, jeśli przyjmuje się za punkt odcięcia standardowy poziom stężenia Ca125 = 35 IU/ml. Jeśli podwyższy się ten poziom do 95 lub 100 IU/ml, parametry prognostyczne dla Ca125 poprawiają się i są zbliżone do tych obserwowanych dla HE4. W wyniku przeprowadzonych badań wykazano również wyższe wartości pola powierzchni pod krzywą ROC dla subiektywnej oceny ultrasonograficznej niż dla badanych markerów biochemicznych, różnice te jednak nie były istotne statystycznie. Analiza wpływu dodania informacji wynikającej z oceny markerów nowotworowych jako testu drugiego rzutu po wykonaniu oceny ultrasonograficznej wykazała, że działanie takie nie poprawia, a wręcz pogarsza jakość diagnostyczną zarówno w całej grupie kobiet, jak i w grupie pacjentek z guzami określanymi jako *prawdopodobnie złośliwe* i *prawdopodobnie niezłośliwe*. Jedynie w grupie kobiet z guzami określonymi jako *niepewne* analiza NRI wykazała brak istotnego wpływu oceny markerów na jakość diagnostyczną. Przeprowadzona analiza za pomocą regresji logistycznej wykazała również, że jedynie ultrasonografia ma istotny wpływ na stworzony model diagnostyczny.

Problem guzów trudnych diagnostycznie znalazł również odzwierciedlenie w pracach innych badaczy. Valentin i wsp. wykazali, że modele regresji logistycznej nie rozwiązują problemów związanych z guzami trudnymi diagnostycznie [10]. Daemen i wsp. sugerują, że dla guzów trudnych diagnostycznie należy poszukiwać testu drugiego rzutu [12]. Pewne zalety oceny markerów nowotworowych HE4 i Ca125 u kobiet z guzami jajnika próbowali wykorzystać Moore i wsp., proponując w 2009 roku narzędzie nazwane ROMA [1]. Połączenie oceny poziomu HE4 i Ca125 oraz statusu menopauzalnego pacjentki pozwala obliczyć indywidualne prawdopodobieństwo procesu złośliwego w obrębie guza jajnika. Narzędzie to zyskało stosunkowo dużą popularność i jest stosowane w wielu ośrodkach klinicznych. Niemniej istnieją badania, np. opublikowane przez Van Gorp i wsp., które wykazały, że ani HE4, ani ROMA nie przewyższają możliwości diagnostycznych oceny samego Ca125 [78].

Przeprowadzone badania potwierdzają fakt, że subiektywna ocena ultrasonograficzna wydaje się obecnie najlepszym narzędziem diagnostycznym. Wymaga ona jednak zaangażowania doświadczonego klinicysty dysponującego nowoczesnym aparatem ultrasonograficznym. Powoduje to konieczność prowadzenia specjalistycznego szkolenia ginekologów w celu poprawy jakości i dostępności wykonywanych badań ultrasonograficznych. Może to mieć niebagatelne znaczenie w poprawie wyników diagnostyki i leczenia kobiet z rakiem jajnika. Wnioskiem z przeprowadzonych badań jest między innymi fakt, że ocena markerów nowotworowych jest szczególnie przydatna mniej doświadczonym klinicystom posługującym się badaniem ultrasonograficznym lub tym klinicystom, którzy nie wykonują w ogóle badania ultrasonograficznego. Wykazano również, że po przeprowadzeniu precyzyjnej oceny ultrasonograficznej

w grupie guzów trudnych diagnostycznie nie uzyskuje się korzyści z następowej oceny markerów nowotworowych, w tym także HE4. Poszukiwania testu drugiego rzutu wydają się wobec powyższego wciąż uzasadnione.

## 5. WNIOSKI – ZASTOSOWANIE WYNIKÓW PRZEPROWADZONYCH BADAŃ

Założenia projektu habilitacyjnego obejmowały wieloczynnikową analizę dostępnych przedoperacyjnie informacji dotyczących pacjentek z guzami przydatków mającą wyłonić te elementy, które istotnie wpływają na jakość klasyfikacji guzów jako złośliwe lub niezłośliwe. W cyklu opublikowanych prac przeanalizowano elementy związane z ultrasonograficzną i dopplerowską oceną badanych guzów, przeanalizowano możliwości wspomagania decyzji opartej na modelach matematycznych, takich jak analiza regresji logistycznej i sztuczne sieci neuronowe, oraz poddano analizie nowe markery biochemiczne i markery angiogenezy. Mając na celu stworzenie nowego narzędzia diagnostycznego, wyniki i wnioski z opublikowanych prac poddano weryfikacji na podstawie badań przeprowadzonych na nowej, prospektywnej grupie pacjentek. Grupę tą stanowiła populacja 268 kobiet z guzami przydatków. W grupie tej znajdowało się 101 (38%) pacjentek z nowotworem złośliwym jajnika oraz 167 (62%) pacjentek z guzem niezłośliwym. W badanej grupie 177 (66%) pacjentek było przed menopauzą, a 91 (34%) spośród nich było diagnozowanych po menopauzie. Wyniki i wnioski cyklu prac stanowiących założenia projektu habilitacyjnego były podstawą do przeprowadzenia badań prospektywnych. Wykonano 10 powtórzeń dziesięciokrotnej stratyfikowanej walidacji krzyżowej, co pozwoliło na uzyskanie wysoce rzetelnych i stabilnych wyników. Wszystkie obliczenia zostały przeprowadzone za pomocą oprogramowania Weka 3.6.

Stworzony model regresji logistycznej wynikający z efektu przeprowadzonych badań prezentowanych w cyklu prac pozwala na zaproponowanie równania, które diagnozę nowotworu złośliwego określa jako:

**diagnoza = 1,68 + (-0,47) x status menopauzalny + (-0,57) x budowa ściany wewnętrznej guza + (-0,5) x umiejscowienie guza + (-1,37) x lokalizacja naczyń w guzie + (0,31) x PI + (2,17) x RI + (-0,13) x stężenie endoteliny-1 + (-0,01) x stężenie osteopontyny**

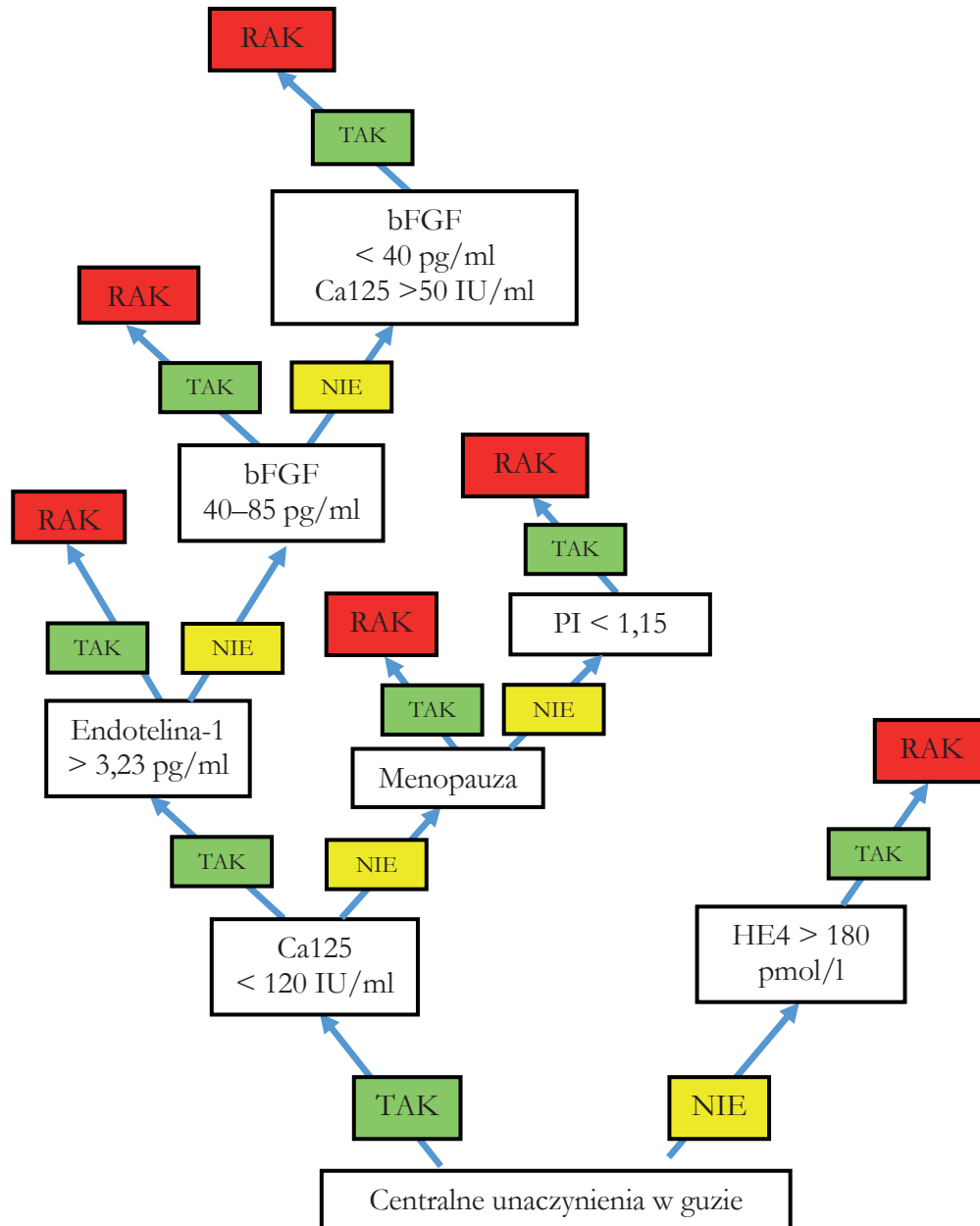
Model ten został opracowany z wykorzystaniem dziesięciokrotnej stratyfikowanej walidacji krzyżowej na grupie 268 pacjentek. Przy takich założeniach wynikających z efektu przeprowadzonego cyklu badań uzyskano wysoką jakość prawidłowej klasyfikacji guzów jajnika. Poprawnie sklasyfikowano 230 guzów, czyli 86%. Analiza regresji niepoprawnie oceniła grupę 38 guzów, co stanowi 14%. Wyniki prawdziwe w grupie nowotworów niezłośliwych stanowiły aż 92%. Dokładność tej metody określono na poziomie 85,8%, a pole powierzchni pod krzywą ROC wynosi 0,901.

Równie wysokie wyniki dotyczące jakości klasyfikacji badanych guzów jajnika można osiągnąć jednak w dużo prostszy sposób. Na podstawie analizy reguł decyzyjnych stworzono

nową metodę, która zgodnie z założeniami projektu badawczego poza łatwością zastosowania miała być wysoce skuteczna i uzasadniona ekonomicznie (**Rycina**). Model ten został opracowany również z wykorzystaniem dziesięciokrotnej stratyfikowanej walidacji krzyżowej na grupie 268 pacjentek. Wyłonione reguły pozwoliły na stworzenie drzewa decyzyjnego, które umożliwia poprawną diagnozę w wyniku analizy od 2 do 5 elementów dostępnych w ocenie przedoperacyjnej pacjentek z guzami jajnika. Nazwa tego narzędzia – PROCA – pochodzi od pierwszych liter anglojęzycznego określenia mówiącego o przewidywaniu raka jajnika – *predicting ovarian cancer* – a jednocześnie nawiązuje do prostego i skutecznego narzędzia walki. W tym aspekcie nadzieją, która wynika z zastosowania tego narzędzia, ma być skuteczna walka z rakiem. Wysoką skuteczność tej metody określają parametry prognostyczne. Czułość metody określono na poziomie 85,8%. Określono również, że prawidłową diagnozę postawiono w 85,8% przypadków, czyli u 230 spośród wszystkich badanych pacjentek. Szczególnie wysokie wartości prognostyczne stworzonej metody uzyskuje się w prawidłowym diagnozowaniu nowotworów niezłośliwych, gdzie poziom wyników prawdziwych sięga 96%. Pole powierzchni pod krzywą ROC dla tego narzędzia wynosiło 0,841.

# PROCA

## PREDICTING OVARIAN CANCER



**Rycina.** Nowe narzędzie diagnostyczne w prognozowaniu charakteru złośliwości guzów jajnika – PROCA

Wykorzystując ścieżkę diagnostyczną określoną PROCA, należy w pierwszej kolejności ocenić istnienie centralnie zlokalizowanych naczyń w guzie metodą dopplerowską. Jeśli nie stwierdza się takiego unaczynienia, należy oznaczyć stężenie HE4. Jeśli wynik ten jest wyższy niż 180 pmol/l, to należy prognozować istnienie nowotworu złośliwego, jeśli poziom HE4 jest niższy niż 180 pmol/l, to należy prognozować nowotwór niezłośliwy. Jeśli stwierdza się centralne unaczynienie, należy oznaczyć stężenie Ca125. Dalsze postępowanie zależy od wartości Ca125 z punktem odcięcia 120 IU/ml. Jeśli stężenie Ca125 jest niższe, należy kolejno oznaczyć poziom endoteliny-1 i ewentualnie bFGF. Jeśli to stężenie jest wyższe niż 120 IU/ml, należy określić status menopauzalny i ewentualnie wartość PI, zgodnie z zaprezentowanym schematem.

Poszczególne poziomy decyzyjne oparte są na hierarchii ich wagi ocenionej na podstawie prezentowanego cyklu prac, jak również poszerzonej, nowej analizy matematycznej perspektywnej grupy pacjentek. Istotnym jest fakt, że jeśli w wyniku zastosowania stworzonej metody wspomagającej decyzję nie trafiono na podstawie analizy poszczególnych poziomów drzewa decyzyjnego na rozpoznanie raka (czerwony prostokąt), to wszystkie pozostałe guzy należy uznać z bardzo wysokim prawdopodobieństwem za niezłośliwe. Istotnym jest również fakt, że niektóre ramiona tej ścieżki diagnostycznej są bardzo krótkie i polegają np. na poszukiwaniu centralnego unaczynienia w guzie w badaniu dopplerowskim oraz w wyniku jego niestwierdzenia na ocenie stężenia HE4 w surowicy badanej pacjentki. Inną możliwą, stosunkowo krótką, sekwencją badań diagnostycznych jest dokonana po ocenie dopplerowskiej analiza stężenia Ca125 i endoteliny-1.

Przeprowadzono również analizę badanych pacjentek w podgrupach związanych z ich statusem menopauzalnym i wykazano, że PROCA oznacza się wysoką dokładnością zarówno w grupie pacjentek przed menopauzą (84,2%), jak i po menopauzie (89,0%). Określenie statusu menopauzalnego jest też wykorzystywane na jednym z etapów ścieżki diagnostycznej.

Porównano dokładność nowego narzędzia ze stosowanymi wcześniej metodami prognozowania charakteru złośliwości guzów jajnika. Wykonano 10 powtórzeń dziesięciokrotnej stratyfikowanej walidacji krzyżowej, co pozwoliło na uzyskanie wysoce rzetelnych i stabilnych wniosków. Wszystkie obliczenia zostały przeprowadzone za pomocą oprogramowania Weka 3.6. Wykorzystano w tym celu: ultrasonograficzną ocenę subiektywną guzów, metodę RMI, metodę ROMA i własną skalę morfologiczną – SM. Wykazano, że dokładność PROCA wynosząca 84,6% jest istotnie statystycznie lepsza od dokładności wyznaczonej dla: RMI, SM i ROMA, które wynosiły odpowiednio: 81,1%, 78,4% i 76,1% ( $p < 0,05$ ). Nie wykazano istotnych statystycznie różnic pomiędzy oceną subiektywną, której dokładność wynosiła 89,2%, a nowo stworzonym narzędziem, co czyni je niezwykle przydatnym. Wynika to z faktu, że na wielu etapach procesu diagnostycznego PROCA opiera się na obiektywnych informacjach wynikających między innymi z oceny markerów czy analizy przepływu krwi w guzie metodą dopplerowską. Nie wymaga też tak dużego doświadczenia klinicznego osoby wykonującej badanie ultrasonograficzne, jakie jest niezbędne u osoby dokonującej oceny subiektywnej.

Podsumowując, należy podkreślić, że przeprowadzone badania i opublikowany cykl prac pozwoliły na stworzenie nowego i skutecznego narzędzia w diagnostyce guzów jajnika. Jego zastosowanie i walidacja w większej grupie kobiet umożliwią ocenę rzeczywistej przydatności tej metody u pacjentek z guzami jajnika w udzielaniu jak najrzetelniejszej i skutecznej pomocy w podejmowaniu trafnych decyzji przed leczeniem operacyjnym kobiet z guzami jajnika.

## 6. PIŚMIENNICTWO

1. Moore RG, McMeekin DS, Brown AK, DiSilvestro P, Miller MC, Allard WJ, et al. A novel multiple marker bioassay utilizing HE4 and CA125 for the prediction of ovarian cancer in patients with a pelvic mass. *Gynecol Oncol.* 2009; 112: 40–46.
2. du Bois A, Rochon J, Pfisterer J, Hoskins WJ. Variations in institutional infrastructure, physician specialization and experience, and outcome in ovarian cancer: a systematic review. *Gynecol Oncol.* 2009; 112: 422–436.
3. Vergote I, De Brabanter J, Fyles A, Bertelsen K, Einhorn N, Sevelde P, et al. Prognostic importance of degree of differentiation and cyst rupture in stage I invasive epithelial ovarian carcinoma. *Lancet.* 2001; 357: 176–182.
4. Tingulstad S, Skjeldestad FE, Hagen B. The effect of centralization of primary surgery on survival in ovarian cancer patients. *Obstet Gynecol.* 2003; 102: 499–505.
5. Timmerman D, Schwarzler P, Collins WP, Claerhout F, Coenen M, Amant F, et al. Subjective assessment of adnexal masses with the use of ultrasonography: an analysis of interobserver variability and experience. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 1999; 13: 11–16.
6. Valentin L. Prospective cross-validation of Doppler ultrasound examination and gray-scale ultrasound imaging for discrimination of benign and malignant pelvic masses. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 1999; 14: 273–283.
7. Kaijser J, Van Gorp T, Smet ME, Van Holsbeke C, Sayasneh A, Epstein E, et al. Are serum HE4 or ROMA scores useful to experienced examiners for improving characterization of adnexal masses after transvaginal ultrasonography? *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2014; 43: 89–97.
8. Testa A, Kaijser J, Wynants L, Fischerova D, Van Holsbeke C, Franchi D, et al. Strategies to diagnose ovarian cancer: new evidence from phase 3 of the multicentre international IOTA study. *Br J Cancer.* 2014; 111: 680–688.
9. Valentin L. Pattern recognition of pelvic masses by gray-scale ultrasound imaging: the contribution of Doppler ultrasound. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 1999; 14: 338–347.
10. Valentin L, Ameye L, Jurkovic D, Metzger U, Lecuru F, Van Huffel S, et al. Which extrauterine pelvic masses are difficult to correctly classify as benign or malignant on the basis of ultrasound findings and is there a way of making a correct diagnosis? *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2006; 27: 438–444.
11. Timmerman D, Testa AC, Bourne T, Ferrazzi E, Ameye L, Konstantinovic ML, et al. Logistic regression model to distinguish between the benign and malignant adnexal mass before surgery: a multicenter study by the International Ovarian Tumor Analysis Group. *J Clin Oncol.* 2005; 23: 8794–8801.
12. Daemen A, Valentin L, Fruscio R, Van Holsbeke C, Melis GB, Guerriero S, et al. Improving the pre-operative classification of adnexal masses as benign or malignant by second-stage tests. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2011; 37: 100–106.
13. Sokalska A, Timmerman D, Testa AC, Van Holsbeke C, Lissoni AA, Leone FP, et al. Diagnostic accuracy of transvaginal ultrasound examination for assigning a specific diagnosis to adnexal masses. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2009; 34: 462–470.
14. Ferlay J, Soerjomataram I, Ervik M, Dikshit R, Eser S, Mathers C, et al. GLOBOCAN 2012 v1.0, Cancer Incidence and Mortality Worldwide: IARC CancerBase No. 11 [Internet]. Lyon, France: International Agency for Research on Cancer; 2013. Available from: <http://globocan.iarc.fr>.
15. Engel J, Eckel R, Schubert-Fritschle G, Kerr J, Kuhn W, Diebold J, et al. Moderate progress for ovarian cancer in the last 20 years: prolongation of survival, but no improvement in the cure rate. *Eur J Cancer.* 2002; 38: 2435–2445.

16. Goff BA, Mandel LS, Drescher CW, Urban N, Gough S, Schurman KM, et al. Development of an ovarian cancer symptom index: possibilities for earlier detection. *Cancer*. 2007; 109: 221–227.
17. Andersen MR, Goff BA, Lowe KA, Scholler N, Bergan L, Drescher CW, et al. Use of a Symptom Index, CA125, and HE4 to predict ovarian cancer. *Gynecol Oncol*. 2010; 116: 378–383.
18. DePriest PD, Shenson D, Fried A, Hunter JE, Andrews SJ, Gallion HH, et al. A morphology index based on sonographic findings in ovarian cancer. *Gynecol Oncol*. 1993; 51: 7–11.
19. Ferrazzi E, Zanetta G, Dordoni D, Berlanda N, Mezzopane R, Lissoni AA. Transvaginal ultrasonographic characterization of ovarian masses: comparison of five scoring systems in a multicenter study. *Ultrasound Obstet Gynecol*. 1997; 10: 192–197.
20. Granberg S, Wikland M, Jansson I. Macroscopic characterization of ovarian tumors and the relation to the histological diagnosis: criteria to be used for ultrasound evaluation. *Gynecol Oncol*. 1989; 35: 139–144.
21. Sassone AM, Timor-Tritsch IE, Artner A, Westhoff C, Warren WB. Transvaginal sonographic characterization of ovarian disease: evaluation of a new scoring system to predict ovarian malignancy. *Obstet Gynecol*. 1991; 78: 70–76.
22. Lerner JP, Timor-Tritsch IE, Federman A, Abramovich G. Transvaginal ultrasonographic characterization of ovarian masses with an improved, weighted scoring system. *Am J Obstet Gynecol*. 1994; 170: 81–85.
23. Szpurek D, Moszynski R, Zietkowiak W, Spaczynski M, Sajdak S. An ultrasonographic morphological index for prediction of ovarian tumor malignancy. *Eur J Gynaecol Oncol*. 2005; 26: 51–54.
24. Folkman J. Angiogenesis in cancer, vascular, rheumatoid and other disease. *Nat Med*. 1995; 1: 27–31.
25. Caruso A, Caforio L, Testa AC, Ciampelli M, Panici PB, Mancuso S. Transvaginal color Doppler ultrasonography in the presurgical characterization of adnexal masses. *Gynecol Oncol*. 1996; 63: 184–191.
26. Szpurek D, Moszynski R, Sajdak S. Clinical value of the ultrasound Doppler index in determination of ovarian tumor malignancy. *Eur J Gynaecol Oncol*. 2004; 25: 442–444.
27. Alcazar JL, Merce LT, Laparte C, Jurado M, Lopez-Garcia G. A new scoring system to differentiate benign from malignant adnexal masses. *Am J Obstet Gynecol*. 2003; 188: 685–692.
28. Moszyński R, Szpurek D, Sajdak S. Ultrasonograficzna ocena przepływu krwi za pomocą nowego trybu obrazowania o wysokiej rozdzielczości – eFLOW®. In: Pietryga M, Brązert J (ed.). Podstawy praktycznej ultrasonografii w ginekologii i położnictwie. Poznań: Exemplum; 2009. 228–229.
29. Timmerman D, Verrelst H, Bourne TH, De Moor B, Collins WP, Vergote I, et al. Artificial neural network models for the preoperative discrimination between malignant and benign adnexal masses. *Ultrasound Obstet Gynecol*. 1999; 13: 17–25.
30. Szpurek D, Moszynski R, Smolen A, Sajdak S. Using logistic regression analysis in preliminary differential diagnosis of adnexal masses. *Int J Gynecol Cancer*. 2005; 15: 817–823.
31. Szpurek D, Moszynski R, Smolen A, Sajdak S. Artificial neural network computer prediction of ovarian malignancy in women with adnexal masses. *Int J Gynaecol Obstet*. 2005; 89: 108–113.
32. Moszynski R. Ocena przydatności teorii zbiorów przybliżonych w diagnostyce guzów jajnika. Praca doktorska. Poznań: Akademia Medyczna; 2003.
33. Tingulstad S, Hagen B, Skjeldestad FE, Onsrud M, Kiserud T, Halvorsen T, et al. Evaluation of a risk of malignancy index based on serum CA125, ultrasound findings and menopausal status in the pre-operative diagnosis of pelvic masses. *Br J Obstet Gynaecol*. 1996; 103: 826–831.
34. Montagnana M, Danese E, Ruzzenente O, Bresciani V, Nuzzo T, Gelati M, et al. The ROMA (Risk of Ovarian Malignancy Algorithm) for estimating the risk of epithelial ovarian cancer in women presenting with pelvic mass: is it really useful? *Clin Chem Lab Med*. 2011; 49: 521–525.
35. Timmerman D, Valentin L, Bourne TH, Collins WP, Verrelst H, Vergote I. Terms, definitions and measurements to describe the sonographic features of adnexal tumors: a consensus opinion from the International Ovarian Tumor Analysis (IOTA) Group. *Ultrasound Obstet Gynecol*. 2000; 16: 500–505.

36. Van Holsbeke C, Van Calster B, Bourne T, Ajossa S, Testa AC, Guerriero S, et al. External validation of diagnostic models to estimate the risk of malignancy in adnexal masses. *Clin Cancer Res.* 2012; 18: 815–825.
37. Moszynski R, Szpurek D, Stanek J, Sibila-Owczarska A, Sajdak S. Porównanie wartości diagnostycznej sześciu ultrasonograficznych skal morfologicznej oceny guzów jajnika. *Prz Ginekol Położ.* 2004; 4: 65–69.
38. Granberg S, Norstrom A, Wikland M. Tumors in the lower pelvis as imaged by vaginal sonography. *Gynecol Oncol.* 1990; 37: 224–229.
39. Mol BW, Boll D, De Kanter M, Heintz AP, Sijmons EA, Oei SG, et al. Distinguishing the benign and malignant adnexal mass: an external validation of prognostic models. *Gynecol Oncol.* 2001; 80: 162–167.
40. Moszyński R, Szpurek D, Pawlak M, Golon M, Sajdak S. Wpływ typu histopatologicznego guza jajnika na wartości prognostyczne ultrasonograficznego indeksu morfologicznego. *Ginekol Pol.* 2006; 77: 516–522.
41. Kosary C. Cancers of the Ovary. Chapter 16. In: Baguio R, Young J, Keel G, Eisner M, Lin Y, Horner M-J (ed.). SEER Survival Monograph: Cancer Survival Among Adults: US SEER Program, 1988–2001. Patient and Tumor Characteristics. SEER Program. NIH Pub. No. 07-6215. SEER Survival Monograph: Cancer Survival Among Adults: US SEER Program, 1988–2001. Patient and Tumor Characteristics. SEER Program. NIH Pub. No. 07-6215. Bethesda: National Cancer Institute; 2007. 133–144.
42. Van Holsbeke C, Van Calster B, Testa AC, Domali E, Lu C, Van Huffel S, et al. Prospective internal validation of mathematical models to predict malignancy in adnexal masses: results from the international ovarian tumor analysis study. *Clin Cancer Res.* 2009; 15: 684–691.
43. Van Gorp T, Veldman J, Van Calster B, Cadron I, Leunen K, Amant F, et al. Subjective assessment by ultrasound is superior to the risk of malignancy index (RMI) or the risk of ovarian malignancy algorithm (ROMA) in discriminating benign from malignant adnexal masses. *Eur J Cancer.* 2012; 48: 1649–1656.
44. Moszynski R, Szpurek D, Szubert S, Sajdak S. Analysis of false negative results of subjective ultrasonography assessment of adnexal masses. *Ginekol Pol.* 2013; 84: 102–107.
45. Smolen A, Stachowicz N, Czekierowski A, Kotarski J. [The estimation of the probability of tumor malignancy on the basis of test combination in the primary diagnosis of adnexal tumors]. *Ginekol Pol.* 2010; 81: 254–261.
46. Valentin L, Jurkovic D, Van Calster B, Testa A, Van Holsbeke C, Bourne T, et al. Adding a single CA 125 measurement to ultrasound imaging performed by an experienced examiner does not improve preoperative discrimination between benign and malignant adnexal masses. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2009; 34: 345–354.
47. Gramellini D, Fieni S, Sanapo L, Casilla G, Verrotti C, Nardelli GB. Diagnostic accuracy of IOTA ultrasound morphology in the hands of less experienced sonographers. *Aust N Z J Obstet Gynaecol.* 2008; 48: 195–201.
48. Modesitt SC, Pavlik EJ, Ueland FR, DePriest PD, Kryscio RJ, van Nagell JR, Jr. Risk of malignancy in unilocular ovarian cystic tumors less than 10 centimeters in diameter. *Obstet Gynecol.* 2003; 102: 594–599.
49. Moszyński R, Szpurek D, Sajdak S. Zastosowanie teorii zbiorów przybliżonych w tworzeniu charakterystycznego dla raka jajnika modelu pacjentki. *Prz Ginekol Położ.* 2003; 3(1): 17–21.
50. Moszynski R, Szpurek D, Smolen A, Sroka L, Sajdak S. Application of the rough sets theory and artificial neural networks in prediction of ovarian cancer. *Int J Gynecol Cancer.* 2005; 15 suppl. 2: 131.
51. Jacobs I, Oram D, Fairbanks J, Turner J, Frost C, Grudzinskas JG. A risk of malignancy index incorporating CA 125, ultrasound and menopausal status for the accurate preoperative diagnosis of ovarian cancer. *Br J Obstet Gynaecol.* 1990; 97: 922–929.

52. Moszynski R, Szpurek D, Smolen A, Sajdak S. Comparison of diagnostic usefulness of predictive models in preliminary differentiation of adnexal masses. *Int J Gynecol Cancer*. 2006; 16: 45–51.
53. Biagiotti R, Desii C, Vanzi E, Gacci G. Predicting ovarian malignancy: application of artificial neural networks to transvaginal and color Doppler flow US. *Radiology*. 1999; 210: 399–403.
54. Di Blasio AM, Carniti C, Vigano P, Vignali M. Basic fibroblast growth factor and ovarian cancer. *J Steroid Biochem Mol Biol*. 1995; 53: 375–379.
55. Samoszuk M, Lin F, Rim P, Strathearn G. New marker for blood vessels in human ovarian and endometrial cancers. *Clin Cancer Res*. 1996; 2: 1867–1871.
56. Xu L, Fidler IJ. Acidic pH-induced elevation in interleukin 8 expression by human ovarian carcinoma cells. *Cancer Res*. 2000; 60: 4610–4616.
57. Moszyński R, Szpurek D, Michalak S, Szubert S, Krygowska J, Sajdak S. Ocena stężenia bFGF w surowicy krwi kobiet z guzami złośliwymi i niezłośliwymi jajnika. *Curr Gynecol Oncol* 2009; 7: 199–205.
58. Presta M, Dell'Era P, Mitola S, Moroni E, Ronca R, Rusnati M. Fibroblast growth factor/fibroblast growth factor receptor system in angiogenesis. *Cytokine Growth Factor Rev*. 2005; 16: 159–178.
59. Bagnato A, Salani D, Di Castro V, Wu-Wong JR, Tecce R, Nicotra MR, et al. Expression of endothelin 1 and endothelin A receptor in ovarian carcinoma: evidence for an autocrine role in tumor growth. *Cancer Res*. 1999; 59: 720–727.
60. Spinella F, Rosano L, Di Castro V, Natali PG, Bagnato A. Endothelin-1 induces vascular endothelial growth factor by increasing hypoxia-inducible factor-1alpha in ovarian carcinoma cells. *J Biol Chem*. 2002; 277: 27850–27855.
61. Salani D, Di Castro V, Nicotra MR, Rosano L, Tecce R, Venuti A, et al. Role of endothelin-1 in neovascularization of ovarian carcinoma. *Am J Pathol*. 2000; 157: 1537–1547.
62. Rosano L, Spinella F, Di Castro V, Nicotra MR, Dedhar S, de Herreros AG, et al. Endothelin-1 promotes epithelial-to-mesenchymal transition in human ovarian cancer cells. *Cancer Res*. 2005; 65: 11649–11657.
63. Rosano L, Cianfrocca R, Tocci P, Spinella F, Di Castro V, Spadaro F, et al. beta-arrestin-1 is a nuclear transcriptional regulator of endothelin-1-induced beta-catenin signaling. *Oncogene*. 2013; 32: 5066–5077.
64. Cianfrocca R, Tocci P, Semprucci E, Spinella F, Di Castro V, Bagnato A, et al. beta-Arrestin 1 is required for endothelin-1-induced NF-kappaB activation in ovarian cancer cells. *Life Sci*. 2014.
65. Rosano L, Cianfrocca R, Spinella F, Di Castro V, Natali PG, Bagnato A. Combination therapy of zibotentan with cisplatin and paclitaxel is an effective regimen for epithelial ovarian cancer. *Can J Physiol Pharmacol*. 2010; 88: 676–681.
66. Moszynski R, Szpurek D, Michalak S, Szubert S, Sajdak S. The role of endothelin-1 and its correlation with CA125 levels, grayscale ultrasonography and doppler findings in differential diagnoses of ovarian tumors. *Eur J Gynaecol Oncol*. 2009; 30: 552–556.
67. Rodrigues LR, Teixeira JA, Schmitt FL, Paulsson M, Lindmark-Mansson H. The role of osteopontin in tumor progression and metastasis in breast cancer. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 2007; 16: 1087–1097.
68. Song G, Cai QF, Mao YB, Ming YL, Bao SD, Ouyang GL. Osteopontin promotes ovarian cancer progression and cell survival and increases HIF-1alpha expression through the PI3-K/Akt pathway. *Cancer Sci*. 2008; 99: 1901–1907.
69. Bryant CS, Munkarah AR, Kumar S, Batchu RB, Shah JP, Berman J, et al. Reduction of hypoxia-induced angiogenesis in ovarian cancer cells by inhibition of HIF-1 alpha gene expression. *Arch Gynecol Obstet*. 2010; 282: 677–683.
70. Tilli TM, Franco VF, Robbs BK, Wanderley JL, da Silva FR, de Mello KD, et al. Osteopontin-c splicing isoform contributes to ovarian cancer progression. *Mol Cancer Res*. 2011; 9: 280–293.
71. Bao LH, Sakaguchi H, Fujimoto J, Tamaya T. Osteopontin in metastatic lesions as a prognostic marker in ovarian cancers. *J Biomed Sci*. 2007; 14: 373–381.

72. Zhang LL, Shao SL, Wu Y. [Expressions of osteopontin and B7-H4 in epithelial ovarian neoplasm and their significance]. *Chin J Cancer*. 2010; 29: 25–29.
73. Visintin I, Feng Z, Longton G, Ward DC, Alvero AB, Lai Y, et al. Diagnostic markers for early detection of ovarian cancer. *Clin Cancer Res*. 2008; 14: 1065–1072.
74. Moszynski R, Szubert S, Szpurek D, Michalak S, Sajdak S. Role of osteopontin in differential diagnosis of ovarian tumors. *J Obstet Gynaecol Res*. 2013; 39: 1518–1525.
75. Hellstrom I, Raycraft J, Hayden-Ledbetter M, Ledbetter JA, Schummer M, McIntosh M, et al. The HE4 (WFDC2) protein is a biomarker for ovarian carcinoma. *Cancer Res*. 2003; 63: 3695–3700.
76. Moszynski R, Szubert S, Szpurek D, Michalak S, Krygowska J, Sajdak S. Usefulness of the HE4 biomarker as a second-line test in the assessment of suspicious ovarian tumors. *Arch Gynecol Obstet*. 2013; 288: 1377–1383.
77. Valentin L, Ameye L, Savelli L, Fruscio R, Leone FP, Czekierdowski A, et al. Adnexal masses difficult to classify as benign or malignant using subjective assessment of gray-scale and Doppler ultrasound findings: logistic regression models do not help. *Ultrasound Obstet Gynecol*. 2011; 38: 456–465.
78. Van Gorp T, Cadron I, Despierre E, Daemen A, Leunen K, Amant F, et al. HE4 and CA125 as a diagnostic test in ovarian cancer: prospective validation of the Risk of Ovarian Malignancy Algorithm. *Br J Cancer*. 2011; 104: 863–870.

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

Zdecydowana większość mojej działalności naukowo-badawczej dotyczy zagadnień związanych z diagnostyką i leczeniem pacjentek z guzami jajnika. Dorobek naukowy obejmuje w tej grupie osiągnięć naukowych, (poza w/w cyklem siedmiu prac), 25 prac oryginalnych, z których 8 opublikowano w czasopismach posiadających Impact Factor.

Badania te dotyczyły głównie wieloczynnikowej oceny ryzyka wystąpienia raka jajnika. W trakcie badań obejmujących to zagadnienie brałem również znaczący udział w stworzeniu ultrasonograficznych indeksów: morfologicznego i dopplerowskiego, wspomagających przedoperacyjne podejmowanie decyzji u kobiet z guzami jajnika. Szczegółowo przeanalizowano również wartość ultrasonograficznych, dopplerowskich parametrów przepływu takich jak: PI, RI, PSV, TAMXV i MEDV. Zespół nasz opublikował również wyniki badań dotyczących wykorzystania zaawansowanych technik matematycznej analizy danych takich jak: regresja logistyczna i sztuczne sieci neuronowe.

Istotną część moich zainteresowań naukowych obejmuje cykl publikacji dotyczących zastosowania teorii zbiorów przybliżonych w diagnostyce guzów jajnika. Badania te były podstawą a później konsekwencją mojej rozprawy doktorskiej pt.: Ocena przydatności teorii zbiorów przybliżonych w diagnostyce guzów jajnika. Badania nad możliwościami oceny ryzyka raka jajnika prowadziłem między innymi we współpracy z prof. A. Czekierdowskim oraz dr hab. A. Smoleń z Uniwersytetu Medycznego w Lublinie.

Istotną część moich badań prowadziłem we współpracy z dr hab. S. Michalakiem z Zakładu Neurochemii i Neuropatologii, Katedry Neurologii Uniwersytetu Medycznego im. K. Marcinkowskiego w Poznaniu. Podjąłem również współpracę w zakresie zaawansowanych metod matematycznej analizy danych z prof. M. Wygralakiem z Zakładu Metod Przetwarzania Informacji Nieprecyzyjnej UAM w Poznaniu.

W odniesieniu do raka jajnika opublikowałem również pracę oryginalną dotyczącą skutków leczenia i działań ubocznych u pacjentek poddanych terapii z powodu tej choroby jak również pracę poglądową dotyczącą zasad leczenia operacyjnego raka jajnika. Dziedzina ta zaowocowała również licznymi (ponad 50-cioma) publikacjami w postaci doniesień zjazdowych i licznymi prezentacjami ustnymi na kongresach zagranicznych i krajowych.

Istotny element mojego dorobku naukowego stanowi wykorzystanie badania ultrasonograficznego, a w szczególności badań dopplerowskich w innych chorobach z zakresu ginekologii. Publikacje oryginalne dotyczyły raka i rozrostu endometrium, badań w grupie kobiet z

nieprawidłowymi krwawieniami z narządów płciowych oraz pacjentek stosujących hormonalną terapię zastępczą. Tę część wyników badań prezentowałem również na licznych kongresach naukowych także w formie prezentacji ustnych.

Ważnym elementem mojego zainteresowania naukowego jest również problematyka leczenia operacyjnego w ginekologii. Opublikowałem w tej dziedzinie 3 prace oryginalne i jeden opis przypadku. Niemniej najistotniejszą częścią tego zagadnienia jest dorobek 6 prac poglądowych dotyczących: technik operacyjnych, kwestii etyczno-prawnych przygotowania pacjentek do leczenia operacyjnego jak również oceny powikłań i skuteczności leczenia zabiegowego niektórych chorób ginekologicznych. W czasopiśmie naukowym posiadającym Impact Factor opublikowałem również wyniki badań dotyczących efektów zastosowania rekombinowanego czynnika VIIa u pacjentek leczonych z powodu nowotworów złośliwych.

Część mojej działalności naukowej dotyczyła również udziału w publikacji pracy oryginalnej, kilku opisów przypadków oraz licznych doniesień zjazdowych na temat diagnostyki i leczenia zmian w obrębie gruczołów piersiowych, głównie z zastosowaniem biopsji mammotomicznej.

Kolejnym obszarem zainteresowania jest dla mnie problematyka diagnostyki i leczenia rozrostów i raka endometrium czego efektem są dwie prace oryginalne oraz jedna praca poglądowa jak również liczne doniesienia zjazdowe. Także w zakresie problematyki raka szyjki macicy opublikowałem pracę poglądową i kilka doniesień zjazdowych.

Istotnym elementem mojego zainteresowania naukowego jest również problematyka żylnych choroby zakrzepowo-zatorowej. Wynika to z charakteru prowadzonej działalności klinicznej związanej z leczeniem operacyjnym i problematyką onkologiczną. Opublikowałem w tym zakresie trzy prace poglądowe i jeden opis przypadku.

Jestem również autorem lub współautorem 5 rozdziałów w monografiach dotyczących ultrasonografii, rozrostów endometrium i leczenia operacyjnego u kobiet.

Poza omówionym powyżej cyklem 7 publikacji wybranych jako podstawa do ubiegania się o stopień doktora habilitowanego (łącznie wartość wskaźnika Impact Factor **4,037**, suma punktów KBN/MNiSW **77**), mój dotychczasowy dorobek obejmuje:

- **9** prac oryginalnych opublikowanych w czasopismach, które posiadają współczynnik Impact Factor
- **23** prac oryginalnych opublikowanych w czasopismach, które nie posiadają współczynnika Impact Factor

- **2** opisy przypadków opublikowanych w czasopismach, które posiadają współczynnik Impact Factor
- **10** opisów przypadków opublikowanych w czasopismach, które nie posiadają współczynnika Impact Factor
- **12** prac poglądowych opublikowanych w czasopismach, które nie posiadają współczynnika Impact Factor
- **5** rozdziały w monografiach
- **26** polskich streszczeń zjazdowych
- **56** zagranicznych streszczeń zjazdowych

Sumaryczny wskaźnik Impact Factor dla opublikowanych prac z wyłączeniem prac wchodzących w rozprawę habilitacyjną wynosi **12,791** a suma punktów KBN/MNiI z wyłączeniem prac wchodzących w rozprawę habilitacyjną **353**.

Szczegółowy wykaz opublikowanych prac naukowych oraz informacja o osiągnięciach dydaktycznych, współpracy naukowej i popularyzacji nauki – załącznik 1

Łączna liczba cytowań wszystkich prac wg Web of Science wynosi **71**, a Index Hirsha **5**

Powyższe wskaźniki według Publish or Perish wynoszą: liczba cytowani – **115**, Index Hirsha **6**

## 6. Udział w projektach badawczych

Podczas mojej pracy zawodowej poza działalnością kliniczną i dydaktyczną bardzo ważny elementem jest praca naukowa. Pod kierownictwem prof. Stefana Sajdaka stworzyliśmy wiele projektów badawczych, których realizacja i uzyskane wyniki w sposób istotny poszerzają wiedza na temat nowotworów złośliwych u kobiet w Polsce. Byłem kierownikiem badań lub członkiem zespołu badawczego w następujących projektach:

- Ocena angiogenezy w nowotworach jajnika - 501-01-01110138-08413- kierownik projektu - badania własne - 2007-2010 r.
- Ocena angiogenezy, obrazu ultrasonograficznego i markerów biochemicznych w trudnych diagnostycznie guzach jajnika. – kierownik projektu – od 2009 r.
- Badania nad występowaniem przeciwciał onkoneuronalnych i antyneuronalnych u chorych z nowotworami jajnika. – członek zespołu – 2011 r.
- Ocena humoralnej odpowiedzi immunologicznej u chorych na nowotwory złośliwe jajnika – członek zespołu – 2011-2013 r.

- Wieloczynnikowa ocena ryzyka raka jajnika w oparciu o zaawansowane metody matematycznej analizy danych – kierownik projektu – od 2013 r.

## 7. Staże i szkolenia naukowe

Bardzo ważnym elementem mojego szkolenia zawodowego i naukowego były staże i kursy krajowe i zagraniczne. Podczas tych elementów szkolenia zapoznałem się z zasadami diagnostyki i leczenia schorzeń ginekologicznych, z zasadami prowadzenia rzetelnych badań naukowych jak również z zasadami nowoczesnych i skutecznych metod operacyjnych w leczeniu kobiet z chorobami ginekologicznymi. Brałem udział w następujących szkoleniach w kraju i za granicą:

- Listopad 2003 Luxemburg – kurs „Uterine diagnosis” akredytowany przez ESGE
- Warsztaty szkoleniowe „Nowoczesne obrazowanie ultradźwiękowe w ginekologii onkologicznej” 16-17.09.2005 r. Lublin
- Warsztaty praktyczne – pt.: „Małoinwazyjne metody operacyjnego leczenia wysiłkowego NTM u kobiet – system TVT Secur®” Klinika Ginekologii i Ginekologii Onkologicznej Wojskowy Instytut Medyczny w Warszawie – prof. Włodzimierz Baranowski – marzec 2007r.
- Staż naukowo-szkoleniowy w Klinice Położniczo-Ginekologicznej Uniwersytetu Navarra, Pampeluna, Hiszpania (1-30.06.2007) pod kierunkiem prof. Juana Luisa Alcazara
- Warsztaty operacji laparoskopowo-pochwowych 2007r. ICZMP w Łodzi pod kierunkiem Prof. dr hab. Andrzeja Malinowskiego
- Szkolenie „Expert Practice<sup>sm</sup> Gynecologic Malignancy” – Prime Oncology Budapeszt, Węgry 27-28.06.2008 r.
- Women’s Health Workshop: Pelvic Floor Reconstruction and Female Incontinence Surgery Novy Jicin, Czech Republic 4-5.10.2012 r. (dr Pavel Bartos)
- Warsztaty naukowe – pt.: „Nowoczesne metody operacyjnego leczenia wysiłkowego nietrzymania moczu oraz zaburzeń statyki miednicy u kobiet z wykorzystaniem implantów Unitape™, Ophira™, Nazca™, Ophys™.” Klinika Ginekologii i Ginekologii Onkologicznej Wojskowy Instytut Medyczny w Warszawie – prof. Włodzimierz Baranowski – marzec 2013r.
- Women’s Health Workshop: Pelvic Floor Reconstruction and Female Incontinence Surgery Advanced Workshop Novy Jicin, Czech Republic 23-24.05.2013 r. (dr Pavel Bartos)
- Pelvic Floor Reconstruction and Female Incontinence Surgery Advanced Workshop Novy Jicin, Czech Republic 22-23.05.2014 r. (dr Pavel Bartos)

### 1. Nagrody za działalność naukową

Działalność naukowa naszego zespołu, kierowanego przez prof. Stefana Sajdak została doceniona nagrodami i wyróżnieniami naukowymi.

- Indywidualna nagroda naukowa Rektora Akademii Medycznej im. K. Marcinkowskiego w Poznaniu w roku akademickim 2002/2003
- Wyróżnienie w 2005 roku przez redakcję International Journal of Gynaecology and Obstetrics za pracę pt.: „Artificial neural network computer prediction of ovarian malignancy in women with adnexal masses” - nagroda „The Best Clinical Research Article from a Developing Country”

### 2. Działalność organizacyjna

Bardzo istotną dziedziną mojej działalności zawodowej jest praca organizacyjna. Poza aktywnym członkostwem w strukturach zawodowych, jestem współorganizatorem i twórcą licznych projektów w zakresie działalności Ginekologiczno-Położniczego Szpitala Klinicznego UM im. K. Marcinkowskiego w Poznaniu. Wśród tych funkcji należy wymienić między innymi:

- od stycznia 2001 roku Członek Polskiego Towarzystwa Ginekologicznego
- od lutego 2007 roku członek Sekcji Onkologii Ginekologicznej PTG
- od 2002 r. do 2009 r. Sekretarz Redakcji „Przeglądu Ginekologiczno-Położniczego”
- od 2010 r. członek ISGE – International Society of Gynecological Endocrinology
- od 2010 r. członek Zespołu d/s Cyfryzacji GPSK UM w Poznaniu
- od 1 października 2011 r. zastępca kierownika Kliniki Ginekologii Operacyjnej GPSK UM w Poznaniu
- od października 2012 r. Członek Zarządu Oddziału Wielkopolskiego Polskiego Towarzystwa Ginekologicznego – Skarbnik
- od 06.2014 r. – Członek Zespołu Akredytacyjnego do spraw Farmakoterapii GPSK UM w Poznaniu
- od 07.2014 r. – Członek Zespołu ds. analiz reoperacji GPSK UM w Poznaniu
- od 07.2014 r. – Członek Zespołu ds. analiz przyczyn przedłużonego pobytu pacjentów GPSK UM w Poznaniu

### 3. Działalność dydaktyczna

Bardzo ważną częścią mojej pracy zawodowej jest działalność dydaktyczna. Jest to sfera, w której można przekazać swoją wiedzę i doświadczenie młodym adeptom sztuki medycznej. Moja działalność w tym zakresie jest bardzo intensywna i dotyczy między innymi:

- Prowadzenia zajęć w ramach programu kształcenia studentów w dziedzinie położnictwa i ginekologii, onkologii klinicznej jak również szkolenia studentów z Centrum Nauczania w Języku Angielskim
- Uzyskiwania pozytywnych ocen w ankietach studenckich za zaangażowanie, komunikatywność i poziom merytoryczny prowadzonych zajęć
- Sprawowania opieki nad specjalizacją szkolących się lekarzy w dziedzinie położnictwa i ginekologii
- Jestem promotorem i recenzentem prac magisterskich i licencjackich na kierunku położnictwo WNoZ UM im. K. Marcinkowskiego w Poznaniu
- Biorę udział w organizacji szkoleń dotyczących technik leczenia operacyjnego, również na drodze endoskopowej dla lekarzy specjalizujących się oraz doskonalących swoje umiejętności z całego regionu województwa wielkopolskiego.
- Sprawuję opiekę nad studentami w ramach praktyk „electives – gynecological oncology”

#### 4. Referaty wygłoszona na zjazdach krajowych i zagranicznych

Wyniki badań prowadzonych w naszym ośrodku pod kierownictwem prof. Stefana Sajdaka wielokrotnie miałem przyjemność prezentować na kongresach i zjazdach naukowych podczas których niejednokrotnie stawały się one punktem wyjścia do merytorycznej i owocnej dyskusji. Podczas tych spotkań wielokrotnie miałem okazję prezentować nasze osiągnięcia podczas prelekcji ustnych i udziału w dyskusji na temat istotnych problemów ginekologii onkologicznej. Brałem udział między innymi w poniższych spotkaniach naukowych.

#### UDZIAŁ W KONFERENCJACH I ZJAZDACH:

##### **Zagranicznych:**

- 2<sup>nd</sup> World Congress on Controversies in Obstetrics, Gynecology and Infertility Paris, France 6-9 9 2001
- 4<sup>th</sup> World Congress on Controversies in Obstetrics, Gynecology and Infertility Berlin, Germany 24-27-04-2003
- 12<sup>th</sup> Annual Congress of the European Society for Gynaecological Endoscopy "Endoscopic surgery, its subsidiaries and alternatives". Luxemburg, November 26-29, 2003
- 11<sup>th</sup> World Congress of Gynecological Endocrinology. Florence, Italy, February 26-29.2004
- 10<sup>th</sup> Biennial International Gynecologic Cancer Society Meeting, Edinburgh, Scotland, October 3-7, 2004

- 14<sup>th</sup> International Meeting of the European Society of Gynaecological Oncology (ESGO) September 25-29, 2005 Istanbul, Turkey
- International Meeting of the Flemish Gynaecological Oncology Group (FGOG) "Endocrine treatment and prevention of breast and gynaecological cancers". Brussels, Belgium, January 26-28, 2006.
- 12<sup>th</sup> World Congress of Gynecological Endocrinology. Florence, March 2-5, 2006.
- XII International Congress on Antiphospholipid Antibodies. Florence, 18-20 April 2007.
- V International Conference on Sex Hormones, Pregnancy and Rheumatic Diseases. Florence, April 20-21 2007.
- 15<sup>th</sup> International Meeting of the European Society of Gynaecological Oncology (ESGO) October 28 – November 1, 2007 Berlin, Germany
- 13<sup>th</sup> World Congress of Gynecological Endocrinology. Florence, February 28<sup>th</sup> - March 2<sup>nd</sup>, 2008.
- 18<sup>th</sup> World Congress on Ultrasound in Obstetrics and Gynecology. Chicago, USA, 24-28 August 2008
- 17<sup>th</sup> Annual Congress of the ESGE [European Society for Gynaecological Endoscopy]. Amsterdam, the Netherlands, October 8-11, 2008.
- 14<sup>th</sup> World Congress of Gynecological Endocrinology. Florence, March 4<sup>th</sup> - 7<sup>th</sup>, 2010.
- 20<sup>th</sup> Annual Congress of the ESGE [European Society for Gynaecological Endoscopy]. London, September 21-24, 2011
- 15<sup>th</sup> World Congress of Gynecological Endocrinology. Florence, March 7<sup>th</sup> - 10<sup>th</sup>, 2012.
- 16<sup>th</sup> World Congress of Gynecological Endocrinology. Florence, March 5<sup>th</sup> - 8<sup>th</sup>, 2014.
- 4<sup>th</sup> International Workshop on Radical Surgery in Gynaecological Oncology. Prague, Czech Republic April 3-5, 2014

#### **Krajowych:**

- Ogólnopolska Konferencja STN, Poznań 1995 r.
- "Rak jajnika" Międzynarodowy Kongres Ginekologii Onkologicznej 25-27.05.2001 r. Poznań
- Jubileuszowy Kongres 100 lat Szpitala Klinicznego przy ul. Polnej 33 w Poznaniu 11-13.10.2001r.
- Trombofilia w Położnictwie i Ginekologii Poznań; 22-23.03.2002 r.
- Ginekologia Onkologiczna na progu trzeciego tysiąclecia – Nowe kierunki w diagnostyce i leczeniu; Książ 20-22.06.2002r.

- „Kontrowersje w Ginekologii i Położnictwie” Poznań 18-19.10.2002r.
- „Biopsja mammotomiczna diagnostyka i leczenie” Międzyzdroje 25-26.04.2003 r.
- XXVIII Kongres PTG Bydgoszcz 17-20.09.2003 r.
- VI Poznańskie Dni Medycyny Perinatalnej Poznań; 21-22.11.2003 r.
- The 3<sup>rd</sup> Hot Topics in Perinatal Medicine; Czarniejewo 2-3 April 2004 r.
- Szkoleniowy Panel Wielospecjalistyczny pod patronatem PGP pt.: Choroba zakrzepowo-zatorowa w ginekologii i położnictwie” Jabłonna koło Warszawy 15-16.10.2004r.
- I Kongres Ultrasonografii w położnictwie i ginekologii Poznań, 1-2.04.2005 r.
- Ogólnopolskie Sympozjum Naukowe Sekcji Uroginekologii Polskiego Towarzystwa Ginekologicznego „Nowe trendy w uroginekologii” Lublin 12-14 maja 2005 r.
- „Postępy w dziedzinie nauk medycznych i organizacji ochrony zdrowia. Jubileusz 30-lecia Wydziału Nauk o Zdrowiu AM w Poznaniu”, Poznań, 9-11 czerwca 2005r.
- 7<sup>th</sup> Congress of the European Association for Clinical Pharmacology and Therapeutics. June 25-29, 2005, Poznań, Poland
- Zdrowie reprodukcyjne kobiet w Polsce – seminarium Warszawa 24.06.2005 r.
- Ogólnopolskie Sympozjum „Kontrowersje w ginekologii onkologicznej”. Lublin 16-17.09.2005r.
- Konferencja naukowo-szkoleniowa "I Forum Zdrowia Kobiety". Profilaktyka, rozpoznawanie i leczenie nowotworów narządów płciowych kobiety. Kalisz, 23 IX 2005r.
- II Sympozjum Postępy w diagnostyce i terapii w położnictwie i ginekologii – Łódź 6-8.11.2005r.
- XIX Konferencja Naukowo-Szkoleniowa Polskiego Towarzystwa Flebologicznego i Polskiego Towarzystwa Medycyny Perinatalnej „Niewydolność żylna i limfatyczna oraz żylna choroba zakrzepowo-zatorowa u kobiet ciężarnych”. Szklarska Poręba 9—12.03.2006 r.
- Konferencja naukowo-szkoleniowa "II Forum Zdrowia Kobiety". Kobieta w obliczu walki z patologią i chorobą. Kalisz, 24-25 XI 2006 r.
- Konferencja Naukowa Polskiego Towarzystwa Ginekologii Onkologicznej „Rak jajnika – współczesne zasady postępowania” Warszawa 31.03.2006 r.
- XXII International Congress “The FETUS as a PATIENT” 9-11 June 2006 Poznań, Poland
- XXIX Kongres Polskiego Towarzystwa Ginekologicznego. Poznań, 28-30 IX 2006 r.
- III Krajowa Konferencja szkoleniowa “Ginekologia i Położnictwo 2006 – Medycyna praktyczna; Kraków 15-16.12.2006r,
- "Flebologia XXI wieku". XIX Konferencja Naukowo-Szkoleniowa Polskiego Towarzystwa Flebologicznego. Szczyrk, 1-3 III 2007r.

- Konferencja Naukowo-Szkoleniowa „Niepowodzenia Rozrodu” Poznań, maj 2007r.
- 7<sup>th</sup> International Congress of Young Medical Scientists. Poznań, Poland, May 20-22, 2007
- II Kongres Ultrasonografia w ginekologii i położnictwie Poznań, 25-26.05.2007r.
- II Ogólnopolskie Sympozjum Zaawansowane techniki operacyjne w ginekologii – Hysterektomia 22-23 czerwca 2007 ICZMP Łódź
- VIII Sesja Naukowo-Szkole: „Październik – miesiąc profilaktyki raka piersi” na temat: Nowoczesne leczenie raka piersi. Idea breast cancer units. Poznań 11 października 2007r.
- X Poznańskie Dni Medycyny Perinatalnej – „Operacje w medycynie perinatalnej.” Poznań 9-10 listopada 2007r.
- „Postępowanie przed- i pooperacyjne w ginekologii i położnictwie” 7-8 grudnia 2007r. Lublin
- Sympozjum naukowo-szkoleniowe – „Ginekologia 2008 – standardy postępowania, najnowsze doniesienia” - Poznań, 15.03.2008r.
- Drugiego Interdyscyplinarnego Panelu Ekspertów "Zakażenia HPV - stan wiedzy i perspektywy". Krąg 22-23.02.2008r.
- Sympozjum naukowo-szkoleniowe „Ginekologia 2009” standardy postępowania, najnowsze doniesienia. Poznań 28.03.2009r.
- XXX Jubileuszowy Kongres Polskiego Towarzystwa Ginekologicznego 120 lat PTG. Lublin 16-19 września 2009r.
- Konferencja Naukowo-Szkoleniowa „Cukrzyca, otyłość i inne zaburzenia metaboliczne u kobiet w wieku rozrodczym” Poznań 28 V 2010r.
- Konferencja naukowo-szkoleniowa "VI Forum Zdrowia Kobiety". Czynniki zagrożenia zdrowia i życia kobiety. Kalisz, 15-16 X 2010r.
- Kongres: Ginekologia – Nowe trendy Poznań 11-12.06.2010r.
- Tradycja i nowoczesność 110-lecie szpitala przy Polnej Poznań 14-15 X 2011r.
- XXXI Kongres Polskiego Towarzystwa Ginekologicznego Katowice 19-22 września 2012r.
- Hot Topics w Ginekologii Onkologicznej 2013 – Warszawa 23.02.2013

\* w przypadku, gdy osiągnięciem tym jest praca/ prace wspólne, należy przedstawić oświadczenia wszystkich jej współautorów, określające indywidualny wkład każdego z nich w jej powstanie

