

Bydgoszcz 17.07.2020

Prof. dr hab. n. med. Alina Grzanka
Kierownik Katedry Histologii i Embriologii,
CM w Bydgoszczy,
UMK w Toruniu

Recenzja rozprawy doktorskiej pt. „Ocena ekspresji chromograniny A oraz receptorów estrogenowych i progesteronowych w endometrium pacjentek z nowotworem trzonu macicy” autorstwa mgr Michała Niezgody

promotor: Prof. dr hab. Irena Kasacka

Przedstawiona do oceny praca porusza merytorycznie ciekawe zagadnienie dotyczące współzależności pomiędzy ekspresją chromograniny A a ekspresją receptorów estrogenowych i progesteronowych w przebiegu endometrioidalnego raka endometrium (EEC). Należy podkreślić trafność i oryginalność podjętej problematyki badawczej ocenianej rozprawy doktorskiej. Zwłaszcza, że dotychczasowe dostępne w literaturze badania wskazują, iż żeńskie hormony płciowe regulują wydzielanie badanej glikoproteiny, a jej endokrynnie czynne peptydy, na które rozpada się ona wpływają na rozwój niektórych chorób, predysponujących do rozwoju endometrioidalnego raka endometrium. A zatem oceniana praca wpisuje się idealnie w zagadnienia poszukiwania markerów, które umożliwiłyby wczesną wykrywalność tego nowotworu, należącego do jednych z najczęstszych złośliwych żeńskich nowotworów narządów rozrodczych. Doktorant słusznie podjął się niniejszych badań w szczególności, że diagnostyka nowotworu endometrium jest wciąż niedoskonała, a rak ten najczęściej wykrywany jest dopiero w postaci zaawansowanej.

Rozprawa na stopień doktora nauk medycznych i nauk o zdrowiu Pana mgr Michała Niezgody pt. „Ocena ekspresji chromograniny A oraz receptorów estrogenowych i progesteronowych w endometrium pacjentek z nowotworem trzonu macicy” stanowi oryginalne rozwiązanie problemu naukowego. Badania są ciekawe i istotne nie tylko z punktu naukowego ale ze względu na podjętą próbę wyjaśnienia wartości ekspresji chromograniny A oraz receptorów estrogenowych i progesteronowych jako markerów, które umożliwiłyby

wczesną wykrywalność tego nowotworu. Doktorant podjął się zarówno identyfikacji chromograniny A oraz receptorów estrogenowych (α , β) i progesteronowych (A, B), jak i oceny porównawczej immunoreaktywności badanych białek w błonie śluzowej trzonu macicy u pacjentek z endometrioidalnym rakiem endometrium i kobiet bez patologicznych zmian w endometrium. Część badawczą kończy ocena ekspresji chromograniny A (*CHGA*), receptora estrogenowego α (*ESR1*), receptora estrogenowego β (*ESR2*) oraz receptorów progesteronowych (*PRG*) na podstawie mRNA u pacjentek grupy badanej i kobiet z grupy kontrolnej.

Rozprawa doktorska obejmuje 112 stron maszynopisu, przygotowana jest starannie, napisana w sposób przejrzysty, zwięzły, a zarazem zrozumiały. Napisana jest językiem poprawnym, z użyciem właściwej terminologii. Sposób edycji pracy jest prawidłowy, zauważyłam tylko kilka drobnych błędów literowych i gramatycznych, które nie umniejszają istotnych osiągnięć pracy, a wspomniałam o nich jedynie z obowiązku recenzenta. Ma ona układ typowy dla rozprawy doktorskiej, podzielona jest na rozdziały i podrozdziały o właściwych proporcjach. Na początku rozprawy doktorskiej znajduje się wykaz używanych w niej skrótów, co znacznie ułatwia czytanie kolejnych rozdziałów pracy.

Wstęp jest obszerny i oparty o dobrze dobrane piśmiennictwo, które uwzględnia najnowszą wiedzę w zakresie tematyki badawczej. Rozdział ten jest zrozumiały i daje dobre podstawy do lektury dalszych części rozprawy. Wskazuje także na dużą wiedzę Doktoranta w zakresie obranej przez Niego tematyki badawczej. Rozdział „Założenia i cel pracy” został przez Doktoranta wyczerpująco opisany, a cel szczegółowo sformułowany. Rozprawa doktorska jest dobrze zaplanowana, a dobrane przez Doktoranta techniki badawcze opisane w rozdziale „Materiał i metodyka” pozwoliły na zrealizowanie założonego przez Niego celu badań. Eksperyment przeprowadzono na materiale pochodzącym od 50 pacjentek z nowotworem endometrium i 20 zdrowych kobiet z Kliniki Ginekologii i Ginekologii Onkologicznej Uniwersyteckiego Szpitala Klinicznego w Białymstoku. Materiał badawczy stanowiły wycinki endometrium trzonu macicy pobrane podczas operacji. Na przeprowadzone badania uzyskano zgodę Komisji Bioetycznej Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku nr R-I-002/199/2014. Rozdział ten został napisany wyczerpująco, a przedstawiony w nim warsztat badawczy, który opierał się w głównej mierze na reakcjach immunohistochemicznych stanowił podstawę do otrzymania wyników, które jasno i konkretnie Doktorant omówił w rozdziale „Wyniki” podzielonym na odpowiednie podrozdziały. W ostatnim z nich, wykorzystując metodę RT-qPCR, ocenił On ekspresję

chromograniny A, receptorów estrogenowych i progesteronowych na podstawie mRNA. Zwraca uwagę fakt, że w każdym z podrozdziałów Doktorant nie tylko omawia otrzymane wyniki, ale jednocześnie ilustruje je rycinami, fotografiami, a także tabelami. Zarówno wszystkie ryciny jak i tabele są przemyślane i pozwalają na przedstawienie wyników w bardzo przejrzystej formie, co znacznie ułatwiło zapoznanie się z efektami badań. W przeprowadzonych badaniach Doktorant stwierdził pozytywną reakcję immunohistochemiczną dla chromograniny A, receptorów estrogenowych α oraz A i B receptorów progesteronowych. W endometrium zdrowych kobiet obecne były α i β receptory estrogenowe, jak i progesteronowe A i B zaś wynik reakcji immunohistochemicznej dla chromograniny A był negatywny. Stosując analizę densytometryczną odnotowano znamienne statystycznie wzrost reakcji immunohistochemicznej dla chromograniny A i receptorów progesteronowych u pacjentek z rakiem endometrium w porównaniu do kobiet grupy kontrolnej. Natomiast wykazano istotny statystycznie spadek intensywności reakcji w przypadku receptorów estrogenowych. Poza tym, badając ekspresję genów dowiedziono, że u kobiet z nowotworem nastąpił istotny statystycznie wzrost ekspresji genu kodującego chromograninę A (*CHGA*) a ekspresja genów kodujących receptory estrogenowe α (*ESR1*) i receptory progesteronowe (*PRG*) była znamienne statystycznie niższa. Bez różnicy istotnie statystycznej obserwowano spadek ekspresji w przypadku genu kodującego receptory estrogenowe β (*ESR2*). Otrzymane wyniki zostały omówione w rozdziale "Dyskusja", który jest napisany rzeczowo i merytorycznie. W rozdziale tym mgr Michał Niezgoda odniósł się do dostępnych w piśmiennictwie publikacji innych autorów, wykazując dużą kompetencję, zrozumienie przeprowadzonych badań, jak i krytyczną analizę własnych wyników w stosunku do innych badaczy. Doktorant pisząc go udowodnił, że potrafi ustosunkować się do wyników badań własnych w kontekście dobrze dobranego piśmiennictwa. Uważam, że Doktorant osiągnął zamierzone cele o czym świadczą cztery wnioski kończące rozprawę doktorską, które zostały jasno i logicznie sformułowane.

W podsumowaniu recenzji stwierdzam, że uzyskane wyniki w dysertacji są spójne i ważne dla podjętej problematyki badawczej. Doktorant udowodnił, że potrafi samodzielnie sformułować i rozwiązać problem naukowy, dobrze dobrać i opanować techniki badawcze, które posłużyły Jemu do uzyskania wyników na dobrym poziomie, a także przeprowadzić dyskusję swoich wyników z wynikami innych grup badawczych. A zatem, udowodnił, że posiada zdolności do prowadzenia samodzielnych badań naukowych. Jako recenzent dostrzegam również możliwość dalszego rozwoju naukowego Pana mgr Michała Niezgody,

zwłaszcza w zakresie szczegółowej analizy porównawczej wyników ekspresyjnej ujętych w rozprawie doktorskiej z szeregiem parametrów klinicznych pacjentów z rakiem endometrium, jak również pogłębianiu pasji naukowej w dziedzinie biologii nowotworzenia m.in. o szlaki sygnalizacyjne w procesach kancerogenezy.

A zatem stwierdzam jednoznacznie, że rozprawa doktorska mgr Michała Niezgody pt. „Ocena ekspresji chromograniny A oraz receptorów estrogenowych i progesteronowych w endometrium pacjentek z nowotworem trzonu macicy” w pełni spełnia kryteria rozprawy naukowej na stopień doktora nauk medycznych i nauk o zdrowiu. Zwracam się do Kolegium Nauk Farmaceutycznych Wydziału Farmaceutycznego z Oddziałem Medycyny Laboratoryjnej Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku o dopuszczenie mgr Michała Niezgody do dalszych etapów przewodu doktorskiego. Jednocześnie, wnioskuję o wyróżnienie rozprawy doktorskiej, ze względu na jej wysokie walory poznawcze oraz oryginalność uzyskanych wyników.

KIEROWNIK
Katedry Histologii i Embriologii
prof. dr hab. Alina Grzanka
Prof. dr hab. n. med. Alina Grzanka