UNIWERSYTET MEDYCZNY IM. KAROLA MARCINKOWSKIEGO W POZNANIU

KATEDRA GINEKOLOGII, POŁOŻNICTWA I ONKOLOGII GINEKOLOGICZNEJ
KLINIKA ROZRODCZOŚCI
KIEROWNIK KLINIKI
PROF. DR HAB. MED. EWA WENDER-OŻEGOWSKA

ul. Polna 33
60-535 Poznań

tel. 061 84-19-302, 339, 576
fax 061 84-19-625
e-mail: klinrozrod.gpsk.um@gmail.com

Recenzja rozprawy na stopień doktora nauk medycznych, lekarz Joanny Figuły zatytułowanej *„Stężenie osteopontyny w surowicy krwi pacjentek z klinicznie i histologicznie potwierdzoną endometriozą"*

Endometrioza jest przewlekłym estrogenozależnym schorzeniem związanym z bólem i niepłodnością. Charakteryzuje ją obecność endometrium poza jamą macicy. Częstość występowania endometriozy ocenia się na 10% wśród kobiet w wieku rozrodczym, natomiast u kobiet z niepłodnością rozpoznawana jest u 50% chorych.

Etiologia choroby jest wieloczynnikowa: genetyczna, epigenetyczna i środowiskowa. Istnieje kilka hipotez wyjaśniających patogenezę schorzenia, jednak dokładny molekularny i patofizjologiczny mechanizm prowadzący do rozwoju choroby pozostaje niejasny.

W rozpoznawaniu endometriozy nadal złotym standardem pozostaje laparoskopia, niestety dotychczas nie wykryto markera wskazującego jednoznacznie na występowanie endometriozy. Znalezienie nieinwazyjnej metody diagnostycznej stało się kluczowym celem prowadzonych badań naukowych.

Przedstawiona do oceny rozprawa ma klasyczny układ. Liczy 60 stron i składa się z typowych rozdziałów (wprowadzenie, cel, materiały i metody, wyniki badań, dyskusja, wnioski, streszczenie w języku polskim i angielskim, bibliografia) oraz dodatkowo spis tabel, rycin i zdjęć. W pracy umieszczony jest także wykaz użytych skrótów, który ułatwia lekturę tekstu.

Przedstawiona do recenzji praca pod względem redakcyjnym jest wykonana starannie. Napisana jest poprawnym i zrozumiałym językiem. Piśmiennictwo w liczbie 114 pozycji zostało przez autorkę starannie dobrane i umiejętnie cytowane w pracy. Piśmiennictwo jest w pełni aktualne.

W rozdziale „Wprowadzenie" lekarz Joanna Figuła w szczegółowy sposób scharakteryzowała definicję, epidemiologię oraz klasyfikację endometriozy. Autorka dużą uwagę poświęciła na omówienie etiopatogenezy endometriozy wraz z charakterystyką uznanych teorii próbujących wyjaśnić mechanizm powstawania tej enigmatycznej choroby.

Rozdział zatytułowany „Wprowadzenie" zawiera obszerny przegląd metod diagnostycznych endometriozy, w których Doktorantka precyzyjnie omawia te metody podkreślając jednak, że do dnia dzisiejszego nie udało się znaleźć

markera endometriozy, który łączyłby wysoką czułość oraz swoistość a znalezienie go pozostaje jednym z ważniejszych celów badaczy zajmujących się endometriozą. Rozdział zatytułowany „Wprowadzenie" kończy analiza metod farmakologicznych i operacyjnych leczenia endometriozy, w których Autorka w precyzyjny sposób omawia te zagadnienia.

„Wprowadzenie" doskonale wprowadza czytelnika w sferę zagadnień stanowiących istotę badań prowadzonych przez Doktorantkę.

W kolejnym rozdziale zatytułowanym „Cel rozprawy", lekarz Joanna Figuła w 3 poprawnie sformułowanych, logicznych i przejrzystych punktach formułuje kierunki swoich dociekań naukowych. Dotyczą one: analizy ekspresji genów szlaku osteopontyny w tkance pobranej z ognisk enodometriozy w porównaniu do niezmienionej chorobowo otrzewnej metodą mikromacierzy genetycznej, zmian ekspresji genu osteopontyny (mRNA) metodą RT-PCR w tkance pobranej z ognisk endometriozy w stosunku do niezmienionej chorobowo otrzewnej oraz określenia stężenia białka osteopontyny w surowicy pacjentek z potwierdzoną endometriozą w stosunku do kobiet bez schorzenia.

Bezpośrednio po przedstawieniu celów pracy Autorka dokonuje szczegółowej prezentacji materiału i metod wykorzystanych do badań. Materiał ten stanowiła krew pobrana od 20 pacjentek w wieku rozrodczym z klinicznie i histopatologicznie potwierdzoną endometriozą oraz od 20 pacjentek zdrowych, które utworzyły grupę kontrolną. Ponadto Autorka celem określenia ekspresji genu osteopontyny (*SPP1)* oraz analizy mikromacierzy wykorzystała materiał tkankowy pobrany z ognisk endometriozy oraz z niezmienionej otrzewnej okolicy załamka pęcherzowo-macicznego. Wykorzystane przez Autorkę w pracy doktorskiej metody badawcze są różnorodne i nowoczesne.

Rozdział „Wyniki" ilustruje zarówno w formie opisowej jak i tabelarycznej efekty przeprowadzonych przez Autorkę badań.

Przeprowadzona analiza wykazała, że endometrioza miała istotny wpływ na różnice w ekspresji 793 oligonukleotydów (1,86%) całości; z których 244 sekwencji było regulowane w dół i 549 regulowane w górę w próbkach pochodzących z ognisk endometrialnych. Do końcowej analizy Doktorantka wybrała te, na które choroba wpływała istotnie znacząco ($p<0,05$ i krotność różnicy ekspresji $FC>2$). Przy tak zawężonych kryteriach choroba zmieniała ekspresję 214 genów, z czego 26 genów (w tym analizowany przez Doktorantkę gen dla osteopontyny – *SPP1*) wykazywała największe różnice statystyczne między tkanką chorą i zdrową. Kolejnym etapem prowadzonych przez Autorkę badań była analiza szlaków metabolicznych, która wykazała, że ponad 50% genów szlaku osteopontyny podlega regulacji pod wpływem endometriozy. Również przeprowadzone badanie ekspresji genu dla osteopontyny w implantach endometrium w stosunku do niezmienionej chorobowo otrzewnej za pomocą metody RT-PCR wykazało 32 krotny wzrost poziomu transkryptu u chorych z endometriozą. W pracy wykazano również istotne statystycznie różnice ($p<0,0077$) w zakresie stężenia osteopontyny w surowicy krwi u pacjentek z endometriozą w stosunku do zdrowej kontroli.

Rozprawę kończy dyskusja ośmiostronnicowa dyskusja, którą Autorka oparła o ponad 30 pozycji piśmiennictwa. W dyskusji lekarz Joanna Figuła szczegółowo analizuje uzyskane przez siebie wyniki i porównuje je z rezultatami innych Autorów. Szczególnie starannie Doktorantka przeanalizowała ekspresję genów szlaku osteopontyny *(SPP1),* większość z nich nie była badana u kobiet z endometrioza co dodatkowo podkreśla pionierski charakter pracy.
Rozprawę podsumowują 4 konkretne wnioski, z których 3 stanowią odpowiedź na pytania zawarte w celach pracy, czwarty ostatni wniosek dotyczący udziału witaminy D w etiopatogenezie endometriozy może wytyczać kierunki dalszych badań Doktorantki.
Z obowiązku recenzenta muszę wspomnieć o drobnych błędach interpunkcyjnych, stylistycznych, numerologicznych, które w żaden sposób nie umniejszają wartości pracy i w wielostronicowej rozprawie są trudne do uniknięcia.
Niefortunnym wydaje się użycie przez Doktorantkę w rozdziale „Wstęp" oraz „Wyniki" sformułowania, iż zaawansowanie endometriozy oparto o międzynarodową klasyfikację r- AFS (revised-American Fertility Society). W 1996 roku Amerykańskie Towarzystwo Płodności zmieniło nazwę na Amerykańskie Towarzystwo Medycyny Rozrodu (ASRM), co spowodowało zmianę nazwy klasyfikacji z rAFS na rASRM.
W podrozdziale „Wybór grup pacjentek" zdaniem Recenzenta należałoby dodać opis i charakterystykę grupy kontrolnej, która jest wzmiankowana w podrozdziale "Pobieranie materiału do badań". W podrozdziale dotyczącym omówienia analizy poziomu ekspresji (str. 25) omyłkowo Doktorantka napisała, że analizowano ekspresję względem komórek kontrolnych- prawidłowego endometrium, podczas gdy kontrolę stanowiła chorobowo niezmieniona otrzewna.
Kończąc moją recenzję, stwierdzam, że temat recenzowanej rozprawy jest interesujący i ambitny, a praca ma dużą wartość poznawczą. Autorka dowiodła umiejętności prowadzenia badań naukowych i rozwiązywania problemów naukowych.

Podsumowując, przedstawiona do recenzji rozprawa doktorska pt. *„Stężenie osteopontyny w surowicy krwi pacjentek z klinicznie i histologicznie potwierdzoną endometriozą"* spełnia warunki określone w art.13 ustawy z dnia 14 marca 2003r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki 9Dz.U. nr 65, poz. 595 z póź. zm.)
Wnoszę do Wysokiej Rady Wydziału Lekarskiego Uniwersytetu Jagiellońskiego w Krakowie o dopuszczenie lekarz Joanny Figuły do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

8776449 dr hab. n. med. Małgorzata Szczepańska
Specjalista Położnictwa
i Ginekologii