

Ocena rozprawy na stopień naukowy doktora nauk medycznych i nauk o zdrowiu
w dyscyplinie nauki medyczne lek. Beaty Krystyny Rak
pt.: „ Mechanizm inwazyjności gruczolaków przysadki zależny od mikroRNA ”.

Gruczolaki przysadki są trzecim co do częstości występowania nowotworem ośrodkowego układu nerwowego. W większości są nowotworami łagodnymi. Zdarzają się jednak gruczolaki złośliwe, naciekające sąsiednie struktury, nawracające po operacji, obarczone gorszym rokowaniem. Z tego względu jak najwcześniejsze rozpoznanie takiego guza, usunięcie go i dalsza uważna obserwacja może poprawić rokowanie u chorych. Istnieją dowody naukowe wskazujące na znaczącą rolę cząsteczek mikroRNA w patogenezie gruczolaków przysadki. Zmiany ekspresji MikroRNA korelują z występowaniem nowotworów, z ich rozrostem oraz rokowaniem i przeżywalnością chorych. Z tego względu bardzo interesujące jest podjęcie przez Doktorantkę badań mających na celu znalezienie nowych cząsteczek - także wśród mikroRNA - które pozwoliłyby na zróżnicowanie guzów przysadki inwazyjnych od nieinwazyjnych, a także na lepsze poznanie ich patogenezy.

W pierwszej części rozprawy przeprowadzono retrospektywną analizę materiału histopatologicznego pod kątem poszukiwania markerów inwazyjności pochodzących z 2348 guzów przysadki operowanych w latach 2010-2018 w Klinice Neurochirurgii Wojskowego Instytutu Medycznego. Na przykładzie 348 gruczolaków kortykotropowych - w badaniu metodą mikroskopii elektronowej – oceniono fenotyp, inwazyjność w skali Knospa oraz indeks proliferacyjny Ki-67. W drugiej części rozprawy lek. Beata Krystyna Rak poszukiwała nowych cząsteczek wśród mikroRNA, które mogłyby odpowiadać za inwazyjny charakter gruczolaków przysadki. W tym celu oceniono - z użyciem mikromacierzy - poziom ekspresji 754 cząsteczek mikroRNA w dwunastu gruczolakach poszukując te, których poziom różni się między guzami inwazyjnymi i nieinwazyjnymi. W dalszej kolejności przeprowadzono badania *in vitro* oceniające wpływ cząsteczek mikroRNA na inwazyjność linii komórkowej gruczolaka przysadki.

Na podstawie przeprowadzonych analiz wykazano, że w badanej grupie najczęściej występowały gruczolaki nieczynne hormonalnie. Spośród czynnych hormonalnie najczęściej były to gruczolaki somatotropowe i kortykotropowe. Gruczolaki kortykotropowe występowały 4-krotnie częściej u kobiet niż u mężczyzn. Ocena ultrastrukturalna gruczolaków kortykotropowych pozwoliła na skorelowanie fenotypu skąpoziarnistego z częstszym występowaniem inwazyjności, większą objętością guza i większym wskaźnikiem proliferacyjnym Ki-67. Znalezione dwie cząsteczki mikroRNA, których poziom istotnie różnił się między gruczolakami inwazyjnymi i nieinwazyjnymi. W gruczolakach inwazyjnych somatotropowych i niewydzielających wyższy był poziom mikroRNA-186-5p, niższy mikroRNA-191-5p. Znalezione istotne korelacje poziomów ekspresji cząsteczek mikroRNA z poziomami ekspresji docelowych genów: PTEN, TGFB1 oraz TIMP2. Zmniejszony poziom ekspresji mRNA dla białek supresorowych PTEN i TIMP2 oraz zwiększony dla cytokiny TGFB1 może być odpowiedzialny za powstanie mechanizmu inwazyjności gruczolaków przysadki. W badaniu *in vitro* wykazano, że mikroRNA-454-3p i mikroRNA-590-5p zwiększają inwazyjność modelowej linii komórkowej gruczolaka przysadki. Dodatkowo mikroRNA-93-3p i mikroRNA-590-5p zwiększały zdolność do tworzenia kolonii linii gruczolaka przysadki .

Użycie odpowiednich metod i algorytmów postępowania, właściwie dobrane przez autorkę testy statystyczne gwarantują rzetelną i obiektywną ocenę wyników przeprowadzonych badań oraz wyciągnięcie poprawnych wniosków. Prezentowane przez Doktorantkę wyniki odpowiadają założonym celom. Dyskusja nad wynikami jest wnikliwa i wyczerpująca, zestawienie z piśmiennictwem jest prawidłowe i świadczy o doskonałym teoretycznym przygotowaniu Autorki oraz posiadaniu przez nią dużego doświadczenia i umiejętności krytycznej oceny. Wyciągnięte wnioski są prawidłowe, odpowiadają założeniom i znajdują pełne uzasadnienie w wynikach pracy. Dobór i opracowanie piśmiennictwa jest bardzo staranne i dokładne, a powiązanie z tekstem prawidłowe. Całość pracy świadczy o ogromnym wkładzie wniesionym przez Autorkę w rozwiązanie zagadnienia, jak też o tym, że potrafi ona postawić trudne pytania badawcze i konsekwentnie przeprowadzić badania naukowe w celu kompleksowego ich wyjaśnienia.

Dobór tematu jest trafny i bardzo aktualny, metodyka badań została dobrze dostosowana do celu pracy. Jako recenzent - z prawdziwą przyjemnością – stwierdzam, że nie znalazłem w pracy żadnych błędów.

Przedstawiona mi do recenzji praca doktorska jest oryginalnym wkładem rozwój nauki. Doktorantka potwierdziła w niej udział cząsteczek mikroRNA w patomechanizmie inwazyjności gruczolaków przysadki. Kontynuacja badań w tym kierunku może pozwoli na pełne wyjaśnienie wpływu mikroRNA na ekspresję mRNA białek biorących udział w regulacji onkogenezy i inwazyjności gruczolaków przysadki. Jako klinicysta z niecierpliwością czekam na odkrycie nowych cząsteczek krążących mikroRNA pozwalających na ocenę potencjału inwazyjności guza przysadki jeszcze przed zabiegiem neurochirurgicznym.

Bardzo dobrze oceniając przedstawioną mi pracę na stopień naukowy doktora nauk medycznych i nauk o zdrowiu w dyscyplinie nauki medyczne lek. Beaty Krystyny Rak pt.: „ Mechanizm inwazyjności gruczolaków przysadki zależny od mikroRNA ” uważam, że spełnia warunki art. 13 Ustawy z dnia 14 marca 2003 roku o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz.U nr 65, poz. 595 z późn. zm.) w związku z art. 179 ust.1 ustawy z dnia 3 lipca 2018 r. .Przepisy wprowadzające ustawę – Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz.U. z 2018 r. poz. 1669 z późn. zm.). W związku z tym mam zaszczyt wnieść przed Wysoką Radę Dyscypliny Nauk Medycznych Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego wniosek o dopuszczenie Kandydatki do publicznej dyskusji nad rozprawą. Biorąc pod uwagę dużą wartość naukową rozprawy doktorskiej, w której wyjaśniono niektóre mechanizmy onkogenezy i inwazyjności gruczolaków przysadki oraz wskazano nowe kierunki rozwoju ich diagnostyki, wnioskuję równocześnie o wyróżnienie tej pracy.

Z wyrazami szacunku
Profesor zwyczajny - Kierownik Kliniki
Endokrynologii i Terapii Izotopowej
Centrum Szpitala Klinicznego MCM
Wojskowego Instytutu Medycznego

Grzegorz Kamiński