

Warszawa, 08.06. 2025.

Prof. dr hab. med. Włodzimierz Baranowski
Klinika Ginekologii i Ginekologii Onkologicznej
Wojskowy Instytut Medyczny PIB
Warszawa

Ocena rozprawy na stopień doktora nauk medycznych i nauk o zdrowiu mgr
Alicji Sztokfisz-Ignasiak zatytułowanej „**Rola chromograniny A w patogenezie
endometriozy**”

Z klinicznego i epidemiologicznego punktu widzenia dolegliwości związane z endometriozą są jedną z najczęstszych przyczyn zgłaszania się kobiet w wieku reprodukcyjnym do lekarzy kilku specjalności – najczęściej ginekologów, ale także urologów, internistów, chirurgów i endokrynologów, często do specjalistów z zakresu medycyny rozrodu i leczenia bólu. Powodem tak „szerokiej” symptomatologii endometriozy jest jej wieloogniskowa lokalizacja oraz różny charakter zmian. Mimo wieloletnich prób wyjaśnienia etiopatogenezy endometriozy przyczyny powstawania, a także dynamika przebiegu klinicznego nie zostały wyjaśnione. W związku z powyższym współcześnie nie dysponujemy skutecznym sposobem leczenia tej choroby. **Klucz do rozwiązania problemu etiopatogenezy endometriozy stanowią badania na poziomie molekularnym komórki zgodnie z maksymą „ojca” biologii komórki Edmunda B. Wilsona jeszcze z 1925 roku który stwierdził że „rozwiązania problemu biologicznego trzeba ostatecznie szukać w komórce, ponieważ każdy żywy organizm jest, lub w którymś momencie, był komórką”.** Mimo wieloletnich i relatywnie szeroko zakrojonych badań molekularnych, spójne wyjaśnienie zjawisk na poziomie molekularnym w ogniskach endometriozy nie jest jednoznaczne, a więc każdy przyczynek do tego zasobu wiedzy jest cenny. W związku z powyższym problem badawczy podjęty przez

Doktorantkę jest bardzo aktualny i doskonale wpisuje się we współczesny nurt badań nad tym zagadnieniem.

Przedstawiona do oceny rozprawa ma układ typowy dla tego rodzaju opracowań – spisana została na 91 stronach i zawiera w sumie 7 rozdziałów, a ponadto obszerne streszczenia (wersja polska i angielska) – proponuję usunąć frazy „streszczenie w języku polskim”, „streszczenie w języku angielskim” i zastąpić je słowami „streszczenie” i „summary”, wykaz skrótów używanych przez Doktorantkę w tekście pracy oraz spisy tabel i rycin.

Rozdział pierwszy dysertacji to syntetyczna analiza danych z zakresu etiopatogenezy endometriozy, epidemiologii tego schorzenia a następnie przedstawienie klasyfikacji endometriozy. Istotną częścią tego przeglądu są podrozdziały dotyczące diagnostyki i leczenia endometriozy a także analiza związku pomiędzy endometriozą a zaburzeniami rozrodu. Ta część pracy z konieczności jest syntetyczna, ale większość akcentów rozłożona jest prawidłowo. Z punktu widzenia recenzenta jako klinicysty wydawałoby się sensowne umieszczenie w tym rozdziale również informacji na temat stosowanych współcześnie klasyfikacji endometriozy zarówno anatomicznych (ENZIAN) jak i bardziej „czynnościowych” (EFI). Również w podrozdziale dotyczącym etiopatogenezy endometriozy należałoby uwzględnić inne, bardziej współczesne i dobrze udokumentowane teorie powstawania endometriozy (teoria genetyczna - 1980 - Simpson i wsp., teoria deficytu odporności komórkowej - 1981 - Dmowski i wsp., teoria kombinacyjna - 1990 - Nisolle, Donnez).

Część obejmująca prezentację danych na temat rodziny granin i samej chromograniny A jest napisana bardzo klarownie i jednocześnie zawiera istotne informacje na temat struktury, biosyntezy oraz biologicznej, fizjologicznej roli tego białka i jego pochodnych. Bardzo ciekawa jest część omawiająca rolę lub też udział chromograniny A w różnych stanach patologicznych, ale przede wszystkim możliwy związek chromograniny A oraz jej pochodnych z endometriozą. Z poznawczego punktu widzenia jest to najlepsza część tego rozdziału.

Krytyczne uwagi recenzenta dotyczące tej części to użycie słowa „dyspaneuria” a nie dyspareunia, publikacje Sampsona to nie lata trzydzieste, a dwudzieste XX wieku. Liczne kolokwializmy: „przykładowo” „na hodowlach komórkowych”, „na chwilę obecną”, „zdrowe pacjentki”, „przyczyniać się do

patofizjologii endometriozy". Z uwag merytorycznych to stwierdzenie że „CgA jest syntezowana w jądrze komórkowym” czy zdanie że „u kobiet cierpiących z powodu niepłodności, częstość występowania tej choroby wzrasta nawet do 50% przypadków”. Zdaniem recenzenta warto byłoby w tym rozdziale pokusić się o omówienie wyników współczesnych badań na temat markerów endometriozy, zwłaszcza w aspekcie odstępowania od laparoskopii jako inwazyjnego narzędzia diagnostycznego.

Mimo tych krytycznych uwag ta część pracy prawidłowo wprowadza czytelnika w fenomen endometriozy i molekularnych mechanizmów powodujących progresję schorzenia oraz stanowi dobre uzasadnienie dla podjętych przez Doktorantkę badań.

W drugim rozdziale dysertacji Doktorantka formułuje założenia i główne cele pracy, które dawałyby podstawę do stwierdzenia że CgA może być istotnym ogniwem w molekularnych zjawiskach powstawania i progresji endometriozy. W tym celu planuje identyfikację CgA we fragmentach tkanek endometriozy (torbiele jajnikowe, ogniska otrzewnowe) oraz porównawczo we fragmentach endometrium eutopowego pobranego od pacjentek z grupy kontrolnej, za pomocą reakcji immunohistochemicznych. Ponadto zakłada określenie stężenia oraz wzajemnej korelacji CgA i produktów jej degradacji (CST, PST i VS-II) w surowicy oraz płynie otrzewnowym w grupie badanej i kontrolnej. Badania na poziomie molekularnym obejmują porównanie ekspresji mRNA *CHGA* we fragmentach tkanek endometriotycznych w relacji do endometrium eutopowego pacjentek grupy kontrolnej.

Cennym uzupełnieniem planu badawczego Doktorantki jest próba określenia potencjalnego mechanizmu odpowiedzialnego za ekspresję CgA w tkance endometrialnej w badaniach *in vitro* z wykorzystaniem linii komórkowych 12Z (linia komórek endometrialnych) oraz komórek linii Ishikawa (rak endometrioidny).

W rozdziale trzecim zawarto dane dotyczące analizowanego materiału oraz metody badań. Liczba analizowanych pacjentek (125 kobiet) jest statystycznie znacząca i pozwala na wiarygodną analizę statystyczną. Opis pozostałych procedur (kolekcja materiału klinicznego, utrwalanie, badania immunohistochemiczne, badania molekularne) nie budzi żadnych zastrzeżeń.

W rozdziale czwartym przedstawiono wyniki badań - ryciny i diagramy stanowią jednoznaczną formę zarówno analizy jak i prezentacji wyników.

Uzupełniają je dobrze skomponowane tabele. Użyte adekwatne metody analizy statystycznej pozwoliły na uzyskanie wiarygodnych wyników na podstawie których możliwe było wyartykułowanie wniosków.

Rozdział piąty dysertacji obejmujący porównanie i konfrontację uzyskanych przez Doktorantkę wyników z nielicznymi danymi z literatury światowej został napisany co najmniej poprawnie. Doktorantka słusznie podkreśla, że Jej badania mają charakter pionierski i istotnie poszerzają wiedzę na temat molekularnych zjawisk w endometriozie. Doktorantka podkreśla rolę interakcji między CgA i jej pochodnych a mikrośrodowiskiem zmian endometriotycznych bogatym w plazminogen/plazminę co może rzucać nowe światło na mechanizmy biorące udział w implantacji komórek endometriotycznych w miejscach ektopowych. Doktorantka podkreśla, że zjawisko to jednak nie jest dobrze poznane i wymaga dalszych badań. Innym istotnym spostrzeżeniem wynikającym z wyników prac Doktorantki jest fakt, że wzrost ekspresji CgA może być spowodowany środowiskiem prozapalnym występującym wokół zmian endometriotycznych oraz zjawisko autofagii – jest to nowatorska teza wymagająca jednak dalszych badań. Tę część dysertacji uważam za najlepszą ponieważ zawiera bardzo cenne przemyślenia, realistycznie oparte na danych z badań innych autorów, ale w ścisłym powiązaniu z wynikami badań Doktorantki.

Rozdział szósty w którym Doktorantka formułuje wnioski należałoby nieco zmodyfikować. Pierwsze 4 punkty są raczej omówieniem wyników badań, natomiast punkt piąty stanowi rzeczywisty wniosek o istotnej roli CgA i jej pochodnych w patogenezie endometriozy i może wykazywać „potencjał” diagnostyczno-terapeutyczny.

Z punktu widzenia recenzenta za najbardziej istotne wyniki tej pracy uważam nowatorskie stwierdzenie obecności chromograniny A w komórkach nabłonka gruczołowego ognisk endometriozy i braku tego białka w endometrium eutopowym, co koreluje istotnie wyższymi stężeniami chromograniny A i jej pochodnych (katestatyny i pankreastatyny) w surowicy krwi, jak i w płynie otrzewnowym pacjentek ze zdiagnozowaną endometriozą w relacji do tych parametrów u pacjentek z grupy kontrolnej. Finalny wniosek oparty o wyniki badań Doktorantki to stwierdzenie, że chromogranina A odgrywa istotną rolę w kaskadzie zdarzeń molekularnych powstania i progresji

endometriozy, tym samym może stanowić potencjalny cel w diagnostyce i terapii endometriozy.

Rozdział siódmy to spis aktualnego i historycznego piśmiennictwa (188 pozycji) stanowi istotne wzbogacenie prezentowanej pracy, ale powinien być zredukowany – na przykład szereg prac historycznych można zacytować pod szyldem jednej pracy przeglądowej. Zgodnie z przyjętą zasadą cytowanie nie powinno zawierać litery p (od „page”) za wyjątkiem cytacji książkowych.

Wnioski końcowe

Doktorantka podjęła interesujący i ważny z klinicznego i naukowego punktu widzenia temat badawczy, bardzo pracochłonny, trudny metodycznie, zarówno pod względem zbiórki i transferu materiału klinicznego jak i metodyki zastosowanych badań molekularnych. Efektem tej pracy jest merytoryczna, z niewielkimi usterkami (wymienionymi w tekście recenzji do ewentualnej poprawy) dysertacja doktorska. Biorąc powyższe pod uwagę stwierdzam, że rozprawa doktorska spełnia warunki określone w art. 187 Ustawy z dnia 20 lipca 2018 roku. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. 2018 poz1668) i tym samym jest podstawą do ubiegania się o stopień naukowy doktora nauk medycznych i nauk o zdrowiu w dyscyplinie nauki medyczne. Przedkładam zatem Radzie Dyscypliny Nauk Medycznych Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego wniosek o dopuszczenie mgr Alicji Sztokfisz-Ignasiak do dalszych części przewodu doktorskiego.

Prof. dr hab. med. Włodzimierz Baranowski