

**Uniwersytet Medyczny w Łodzi**  
**Klinika Medycyny Płodności i Ginekologii**  
**Klinika Ginekologii Operacyjnej i Onkologicznej**

Warszawa, dnia 26.10.2023r.

Recenzja rozprawy doktorskiej **lek. Susan Afshari-Stasiak**,  
pt. **„Analiza receptora FSH i czynnika NGF w ścianie torbieli endometrialnych jajnika  
w metodzie mikromacierzy tkankowych”**, wykonanej pod kierunkiem  
Pana prof. dr hab. Piotra Sieroszewskiego (promotor).

Endometrioza to powszechna choroba, która dotyka kobiety w wieku rozrodczym i może prowadzić do różnego rodzaju zaburzeń w obrębie miednicy mniejszej oraz niepłodności. Szacuje się, że około 10-15% kobiet cierpi na endometriozę, natomiast aż 30% kobiet z endometriozą ma problemy z zajściem w ciążę. Dużym wyzwaniem jest nieokreślony odsetek kobiet, które nie są świadomych problemu endometriozy i nie szukają diagnozy, traktując swoje dolegliwości jako nieodłączny element kobiecości. Długi okres od wystąpienia pierwszych objawów do ostatecznego zdiagnozowania endometriozy wynosi według różnych statystyk od około siedmiu do dziewięciu lat. Przez wiele lat główną metodą diagnozowania endometriozy była operacja laparoskopowa, co dodatkowo utrudniało szybką diagnozę. Pomimo tego, że obecnie najnowsze rekomendacje ESHRE nie zalecają wykonania laparoskopii celem rozpoznania endometriozy w przypadku gdy jest ona widoczna w badaniu obrazowym, takim jak ultrasonografia czy rezonans magnetyczny, ciągle wielkim wyzwaniem jest rozpoznanie wczesnych stadiów które mogą powodować znaczne objawy u pacjentki oraz w około 30 % przypadków rozwinąć się do stadiów zaawansowanych.

Konieczne jest, dlatego zrozumienie patogenezy endometriozy w celu identyfikacji potencjalnych nowych biomarkerów umożliwiających szybką i nieinwazyjną diagnozę tej choroby. Kolejnym wyzwaniem jest leczenie, które w przypadku przewlekłego bólu jest dość skuteczne w łagodzeniu objawów. Niemniej jednak, podstawowym problemem jest niemożność zajścia w ciążę podczas leczenia. Stosowane leki hormonalne mogą prowadzić do tzw. sztucznej menopauzy i zaburzeń funkcji rozrodczych. W przypadku niepłodności coraz

częściej stosuje się techniki wspomaganego rozrodu, z których zapłodnienie pozaustrojowe (in vitro) staje się obecnie preferowaną opcją w przypadku zaawansowanej endometriozy.

Szczególnie istotne jest poszukiwanie nowych substancji bioaktywnych, które regulują ekspresję białek i receptorów, wpływając na wrażliwość tkanek na działanie hormonów oraz te, które są odpowiedzialne za przewodzenie bólu lub uczestniczą w regulacji procesów zapalnych prowadzących do niepłodności.

W niniejszym badaniu wykorzystano nowoczesną technikę mikromacierzy tkankowych, która nie jest szeroko upowszechnioną metodą diagnostyczną w ginekologii, a jest przydatna i potencjalnie usprawnia precyzyjną diagnostykę.

Oceniana rozprawa doktorska dobrze wpisuje się w tematykę współcześnie prowadzonych na świecie badań, dotyczących badania wybranych receptorów i czynników regulujących ich ekspresję, które mogą wpływać na rozwój endometriozy.

Przedstawiona do oceny dysertacja, pt. „*Analiza receptora FSH i czynnika NGF w ścianie torbieli endometrialnych jajnika w metodzie mikromacierzy tkankowych*”, jest opracowaniem o klasycznej strukturze. Stanowi dość obszerną pracę naukową, liczącą łącznie 115 stron, podzieloną na rozdziały typowe dla dysertacji doktorskich, tj.: „Wstęp” – 16 stron; „Założenia pracy” – 1 strona, „Materiał i metodyka” – 9 stron, „Wyniki” – 13 stron; „Dyskusja” – 15 stron; „Wnioski” – 1 strona; „Streszczenie w wersji polskiej i angielskiej” – po 2 strony; „Bibliografia” – 20 stron, 196 pozycji - z czego większość pochodzi z ostatnich 10. lat. Część merytoryczną opracowania poprzedzają rozdziały porządkowe w postaci: „Spisu treści” – 2 strony, „Spisu tabel i rycin” – 3 strony, „Spisu załączników” – 1 strona, „Wykazu użytych skrótów” – 2 strony. Na stronach 90-94 znalazło się pięć załączników: Klasyfikacja rASRM, Skala Enzian, Skala EFI, Fotografia obrazująca wpływ czynników zapalnych na rozwój zmian endometrialnych autorstwa Lin i wsp. oraz Zgoda Komisji Bioetycznej na przeprowadzenie badań będących przedmiotem rozprawy. Praca zawiera łącznie 16 rycin i 28 tabel. Należy zauważyć, iż pomimo dużej ilości wyników badań, tabele i ryciny mają przejrzystą i logiczną formę graficzną. Podsumowując, uważam, iż układ pracy doktorskiej jest przejrzysty i zgodny z wymaganiami dotyczącymi rozpraw doktorskich.

Dysertację rozpoczyna „Wstęp”, w którym Doktorantka w sposób kompleksowy wprowadza w temat rozprawy, systematyzując dotychczasową wiedzę dotyczącą endometriozy. W tej części zawarto definicję i etiologię, teorie powstawania - patogenezę endometriozy, omówiono

typy i czynniki ryzyka, opisano objawy i etiologię rozwoju zespołów bólowych w endometriozie. Autorka pracy odniosła się do zagadnień diagnostyki i leczenia, opisała rolę receptorów hormonalnych oraz NGF - neuronowy czynnik wzrostu. Ostatnim zagadnieniem omawianym w części „Wstęp” jest opis techniki mikromacierzy tkankowych, która jest przewodnią metodą badawczą w niniejszej pracy badawczej.

Każda część „Wstępu” jest opisana zwięźle, klarownie i na tyle wyczerpująco, że pozwala na kompleksowe zrozumienie istoty problemu badawczego.

W „Założeniach pracy”, które stanowią drugi rozdział merytoryczny opracowania, Autorka precyzyjnie, zrozumiale i trafnie definiuje dwa cele główne pracy:

- pierwszy: *Zbadanie ekspresji receptora FSH i czynnika wzrostu w torbielach endometrialnych, w porównaniu do innych torbieli jajnika*
- drugi: *Wykazanie korelacji między ekspresją receptora FSH i czynnika NGF w torbielach endometrialnych jajnika*

oraz dwa cele drugorzędne:

- pierwszy: *Wykazanie, czy ekspresja receptora dla FSH oraz NGF zależy od obecności endometriozy otrzewnowej*
- drugi: *Wykazanie zależności pomiędzy objawami endometriozy a ekspresją receptora dla FSH oraz NGF w torbielach endometrialnych.*

W rozdziale „Materiały i metody” Doktorantka opisuje kolejno: dobór grupy badawczej i kontrolnej, kryteria włączenia i wyłączenia udziału pacjentek w badaniu, protokół badania, mikromacierze tkankowe i reakcje immunohistochemiczne, które dokumentuje na przykładowych obrazach na rycinach nr 2-3. W kolejnym punkcie Autorka pracy informuje o zastosowanych narzędziach do analiz statystycznych. Doktorantka dobrze dobrała grupę badaną i grupę kontrolną. Uważam, że sposób doboru próbek do badań był prawidłowy, a zastosowane techniki wykonanych oznaczeń, umożliwiły uzyskanie wiarygodnych badań. Na uwagę zasługuje prawidłowo przeprowadzona analiza statystyczna wyników badań.

W rozdziale „Wyniki” Doktorantka przedstawiła uzyskane wyniki badań w sposób klarowny i zrozumiały. Wyniki zaprezentowano w sposób logiczny w czytelnych tabelach i rycinach. Autorka dokładnie analizuje uzyskane wyniki badań, realizując postawione cele badawcze, co potwierdza umiejętność Doktoranta w projektowaniu i prowadzeniu prac badawczych.

Na kolejnych piętnastu stronach pracy, w rozdziale pt. „Dyskusja” Autorka w sposób przejrzysty i wyczerpujący przedstawia informacje teoretyczne odnośnie prowadzonej problematyki badawczej, własne wyniki badań porównuje z doniesieniami innych autorów, wskazując rozbieżności i podobieństwa wyników własnych z osiągnięciami literaturowymi innych autorów. Należy zauważyć, że przeprowadzone badanie jest pierwszym na świecie badaniem z wykorzystaniem techniki mikromacierzy tkankowych do oznaczeń FSH-R i NGF w torbielach endometrialnych, gdyż dotychczas pojedyncze prace badały związek NGF z torbielami endometrialnymi czy receptora FSH ogółem w endometriozie.

W rozdziale „Wnioski” Autorka przedstawia 4 wnioski, które korelują z postawionymi w założeniach pracy celami badania. Szczególnie wniosek 4 w którym stwierdzono, że zarówno obecność FSH-R w ścianie torbieli jajnika, oraz obecność NGF nie wpływa bezpośrednio na bolesność miesiączek u pacjentek z torbielami endometrialnymi jest ważny bowiem świadczy o złożonej patogenezie bólu miesiączkowego, niezależnej od istnienia torbieli w jajniku. Potwierdzenie potencjalnej roli receptora dla FSH w patogenezie endometriozy jest zapewne istotnym wnioskiem wynikającym z pracy doktorantki. Z drugiej jednak strony stwierdzenie, iż może stanowić podwalimy pod badania nad nowymi lekami w endometriozie wydaje się nieco na wyrost na tym wczesnym i dość ograniczonym etapie badań.

Jak wiadomo niepłodność jest jednym z głównym objawów endometriozy, trafnym wydaje się być spostrzeżenie na temat roli badanych molekuł w patomechanizmach niepłodności u pacjentek z endometriozą i jak autorka zauważyła konieczne są dalsze badania w tym kierunku w dedykowanych ośrodkach.

Z obowiązku recenzenta muszę zwrócić uwagę na podstawowe ograniczenie badania wynikające z jego retrospektywnego charakteru oraz niedużej grupy pacjentek wytypowanych do badania. Badanie prospektywne mogłoby umożliwić lepsze zrekutowanie pacjentek oraz dokładniejsze opracowanie preparatów histopatologicznych pod kątem oceny metodą TMA oraz dalszych reakcji immunohistochemicznych.

W badaniu analizie statystycznej poddano wiele zmiennych z wywiadu pacjentek, które nie wykazały istotnych statystycznie korelacji z uwagi na ilość brakujących danych w analizie retrospektywnej. Ta część statystyki opisowej zyskałaby na znaczeniu w badaniu

prospektywnych, w którym jakość zbieranych danych opisowych jest najczęściej lepsza, mniej jest brakujących danych.

Pomijając powyższe uwagi uważam, że rozprawa doktorska jest napisana starannie i przejrzysto, posiada czytelną i prawidłową strukturę zagadnień. Należy zauważyć, iż uzyskanie wyników badań wymagało od Autora pracowitości i tym samym dokładności we wszystkich etapach rozprawy doktorskiej.

Przedstawiona do recenzji rozprawa doktorska jest dobrze wykonaną pracą o wartości poznawczej i diagnostycznej. Cele badawcze zostały przez Doktorantkę wykonane rzetelnie, z zastosowaniem nowoczesnych metod badawczych oraz właściwych narzędzi statystycznych. Przedłożona do recenzji dysertacja spełnia kryteria rozprawy doktorskiej, a wyniki i wnioski są odkrywcze i mogą okazać się przydatne w diagnostyce endometriozy.

Podsumowując stwierdzam, że rozprawa lek. Susan Afshari-Stasiak, pt. *„Analiza receptora FSH i czynnika NGF w ścianie torbieli endometrialnych jajnika w metodzie mikromacierzy tkankowych”* spełnia wymogi stawiane rozprawom doktorskim określone w art. 13 ust. 1 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. z późniejszymi zmianami), jak również w §6 ust. 3 Rozporządzenia Ministra Nauki i Szkolnictwa Wyższego z dnia 19 stycznia 2018 roku (Dz. U. z 2017 r. poz. 1789). W związku z powyższym mam zaszczyt przedłożyć Senatowi Uniwersytetu Medycznego w Łodzi wniosek o dopuszczenie Pani Susan Afshari-Stasiak do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

**Podpis recenzenta**

