

Dr hab. n. med. Stanisław Horák:

Recenzja rozprawy na stopień naukowy doktora nauk medycznych

Wybrane czynniki genetyczne w niepłodności męskiej.

Autor: Lek. med. Edyta Budzyńska

Promotor: prof. dr. hab. n. med. Maciej Borowiec

Wydział Lekarski Uniwersytetu Medycznego w Łodzi

Katedra Genetyki Klinicznej i Laboratoryjnej

Zakład Genetyki Klinicznej

Rozprawa doktorska lek. med. Edyty Budzyńskiej dotyczy bardzo ważnego lecz rzadko rozważanego w praktyce klinicznej problemu genetycznego podłoża niepłodności męskiej, co podnosi wartość pracy i czyni ją cenną wskazówką diagnostyczną dla lekarzy zajmujących się niepłodnością.

Rozprawa posiada typowy układ pracy doktorskiej zawierający wszystkie jego niezbędne i prawidłowo chronologicznie zamieszczone składowe, tj. tytuł wraz z autorstwem i afiliacją, wykaz skrótów, spis treści, wstęp, cele pracy, materiał i metody, wyniki, dyskusję, streszczenie w języku polskim i angielskim, spis tabel i rycin oraz bibliografię.

Wstęp stanowi doskonale, dobrze udokumentowane i przy tym nierozwlekłe, co bywa wadą wielu rozpraw, wprowadzenie do tematyki badawczej. W sposób jasny i zrozumiały doktorantka przedstawia problematykę niepłodności męskiej i jej aspekt genetyczny, w tym aberracje chromosomalne dotyczące różnych postaci zespołu Klinefeltera, aberracje strukturalne chromosomów, w tym wyodrębniony osobno zespół 46,XX z płcią fenotypowo męską, obecność chromosomów markerowych, mikrodelecje, monogenowe przyczyny niepłodności męskiej z wyodrębnieniem mutacji MTHFR.

Odnosnie tego rozdziału nasuwa się kilka drobnych uwag nie umniejszających jego wartość i wynikających z faktu, iż doktorantka nie jest specjalistą andrologiem. Badanie mężczyzny podejrzewanego jako przyczynę niepłodności danej pary, jeżeli z wywiadu można wykluczyć czynnik seksuologiczny, powinno się rozpoczynać od badania ejakulatu i w razie wyniku nieprawidłowego, badania powtórnego. Dopiero w drugiej kolejności wchodzi w rachubę badanie fizykalne i pozostałe badania. Z punktu widzenia lekarza zajmującego się niepłodnością ważne jest, jakie nasienie dany mężczyzna produkuje niezależnie od tego, czy jest zdrowy, czy chory. Zdarzają się przypadki np. obecności

żyłaków powróżka nasiennego bez dolegliwości u płodnych skądinąd mężczyzn. Badanie fizykalne może w takich przypadkach stanowić czynnik stresogenny. Na stronie 9, rząd 4 powinno być prawdopodobnie: ruch niepostępowy 12% a nie 1% i plemniki nieruchliwe a nie nieruchome (również w rozdziale Dyskusja str.64, rząd 6). Na stronie 11, rząd 21 zamiast [38] powinno być [cyt. za 38], gdyż pozycja literaturowa dotyczy pracy cytującej.

Dwa odrębne cele pracy zostały sformułowane jasno i wynikają ze wstępu i uwzględniają możliwości diagnostyczne ośrodka, w którym pracę wykonano. Każdy z nich mógłby być przedmiotem osobnej rozprawy i w przypadku publikacji wynikających z doktoratu można by ten fakt wykorzystać.

Obszerny materiał i metody badawcze świadczą o mrówczej pracy doktorantki.

Nieco niejasne jest jednak określenie grup probantów. Grupę badaną 1 należałoby określić jako grupę służącą do pierwszego celu pracy. Ponadto poronienia u partnerki mogą mieć również podłoże genetyczne po stronie męskiej, więc lepiej byłoby o tym nie pisać jako czynnika wykluczającym, gdyż z założeń pracy jasno wynika, że zagadnieniem badawczym jest nieplodność rozumiana jako niemożność doprowadzenia do ciąży. Grupę badaną 2 należałoby określić jako grupę służącą do drugiego celu pracy a grupę kontrolną jako grupę kontrolną w stosunku do grupy 2, co dopiero po dłuższej lekturze można wydedukować. Nie podano również, czy mężczyźni ci byli nie tylko zdrowi, ale też płodni.

Kolejne drobne uwagi i pytania nie pomniejszające wartość rozprawy dotyczą samej metodyki wykonywanych badań:

- 1/ Jaki był producent sond molekularnych do testów FISH?
- 2/ Jaki był skład lub producent NP-40 i DAPI?
- 3/ Czy proteinaza K wchodziła w skład zestawu Sherlock AX, czy był inny producent?
- 4/ Czy kolumna wirownicza była z DEAE-celulozy, Sephadexu czy innego materiału i w związku z tym na jakiej zasadzie dochodziło do wiązania DNA z kolumną i jaki był mechanizm działania buforu elucyjnego?
- 5/ Maxwell RSC Promega wykorzystuje szklane cząstki magnetyczne – czy wiązanie DNA z nimi zachodziło, bo były opłaszczone np. przeciwciałami anty-DNA, czy na innej zasadzie i jak cząstki szklane wykazywały magnetyzm?
- 6/ Jaki był producent starterów do badań molekularnych AZF chromosomu Y?
- 7/ Co to jest pz?
- 8/ Jaki był producent starterów do badań molekularnych genu CFTR?
- 9/ Czym się różniła denaturacja wstępna 95°C/300 sek. od denaturacji 95°C/45 sek. oraz synteza 72°C/45sek. od syntezy końcowej 72°C/300 sek.?

10/ Co to jest dNTP?

11/ Jaki był producent testu CF Strip Assay?

12/ Jaki był producent starterów dla poszczególnych wariantów genu MTHFR?

Odpowiedzi na powyższe pytania mogą być przydatne w przypadku późniejszych publikacji.

Metody statystyczne zostały właściwie dobrane do badanego materiału i celów rozprawy.

Wyniki badań doktorantka przedstawiła w postaci 13 tabel i 11 rycin wraz z właściwą ich interpretacją i opisem, co umożliwiło wyciągnięcie właściwych wniosków.

Uwzględniono również bardzo interesujące przypadki, mimo inne przypadek delecji AZFb u mężczyzny z normospermią, który zasługuje na publikację kazuistyczną.

Również w tym rozdziale warto by uwzględnić pewne wskazówki:

1/ Rozdział 4.5 jest niepotrzebny, choć świadczy o uczciwości doktorantki, która na wstępie rozdziału materiał i metody stwierdza, że pary z nieprawidłowym wynikiem badania kariotypu partnerki zostały wykluczone z badań.

2/ Ryciny 4 i 5 obrazują **przykładowe** wyniki analizy wariantów genu MTHFR i stanowią ciekawą ilustrację badań, lecz nie są one konieczne i jeżeli już, powinny być umieszczone raczej w rozdziale materiał i metody.

3/ Ryciny 6 – 11 są zbędne, gdyż częstości występowania poszczególnych wariantów genu MTHFR ujęto już w tabeli 13.

4/ Na stronie 48, rząd 18: Wyrażenie „wartości p” należałoby zastąpić wyrażeniem „istotności statystyczne”. Uwaga ta dotyczy również innych części rozprawy

Dyskusja prowadzona jest prawidłowo, chociaż jej niewielka pierwsza część stanowi powtórzenie wyników. Stanowi ona jedną z najmocniejszych stron rozprawy doktorskiej i podparta jest licznym nowoczesnym piśmiennictwem i świadczy o dojrzałości naukowej doktorantki. Wartości dyskusji nie umniejszają niektóre drobne braki i błędy stylistyczne:

1/ Na stronie 54, rząd 21 lepiej użyć określenia autorzy „postulują” zamiast „postulowali”, gdyż cytowana pozycja piśmiennictwa jest w najwyższej mierze nowoczesna (rok 2023).

2/ Na stronie 56, rząd 6 zamiast „wśród grupy 263...” lepiej użyć „w grupie 263...” lub „wśród 263...”.

3/ Na stronie 61, rząd 29 doktorantka zapomniała umieścić cytowaną pozycję piśmiennictwa.

Kariotypy partnerek z założenia nie wchodziły w zakres pracy i tym samym nie podlegały dyskusji.

Wnioski 1, 2, 3, 4, 5 i 7 zostały sformułowane prawidłowo i stanowią dokładną odpowiedź

na pytania zawarte w pierwszym celu badawczym pracy. Wniosek 6, choć również odpowiada na pierwszy cel pracy, zawiera w sobie ocenę metody.

Streszczenie pracy w języku polskim jest bez zarzutu. W streszczeniu w języku angielskim zamiast słowa „diagnosis” powinno być „diagnostics” i poza tym jest również bez zarzutu.

Bibliografia wykorzystana w pracy jest bogata, dobrze dobrana i nowoczesna. Zasluguje na najwyższe uznanie. Wszystkie pozycje zawarte w bibliografii zostały odpowiednio cytowane.

Podsumowując uważam, że przedstawiona mi do recenzji rozprawa na stopień naukowy doktora nauk medycznych jest bardzo interesująca, zawierająca pierwiastek zarówno poznawczy, jak i praktyczny i inspiruje do dalszych badań. Rozprawa spełnia wymogi stawiane pracy koniecznej do uzyskania stopnia naukowego doktora nauk medycznych i może stanowić podstawę do jej publicznej obrony.

Piekary Śląskie, dnia 22 listopada 2023

2628300 Dr hab. n. med. STANISŁAW HORÁK
SPECJALISTA GINEKOLOG-POŁOŻNIK
SPECJALISTA ENDOKRYNOLOGII
GINEKOLOGICZNEJ PŁODNOŚCI
ANDROLOG KLINICZNY
certyfikat PTA