

Prof. dr hab. med. Radosław Rola
Katedra i Klinika Neurochirurgii
i Neurochirurgii Dziecięcej
Uniwersytetu Medycznego w Lublinie

RECENZJA

rozprawy doktorskiej mgr. Jadwigi Żebrackiej-Gali
pt. „Profil ekspresji genów w gruczolakach przysadki “
przygotowanej pod kierunkiem Prof. dr hab. med. Barbary Jarzab i Prof. dr hab. med.
Dawida Larysza
z Narodowego Instytutu Onkologii im. M. Skłodowskiej-Curie, Państwowego Instytutu
Badawczego, Oddziału w Gliwicach

Leczenie gruczolaków przysadki mózgowej, pomimo ciągłego postępu w strategiach terapeutycznych stosowanych w grupie pacjentów obciążonych tym schorzeniem pozostaje jednym z dużych wyzwań dla współczesnej neurochirurgii. Tradycyjna technika chirurgiczna obejmująca mikrochirurgiczne usunięcie guza z dostępu przezczaszkowego lub przeznosowego na przestrzeni ostatnich lat coraz bardziej ustępuje pola technikom endoskopowym pozwalającym na uzyskanie dobrego efektu terapeutycznego w sposób minimalnie inwazyjny. Wciąż istotnym aspektem w diagnostyce i terapii gruczolaków przysadki jest jednak fakt, że często rozwijają się one bezobjawowo i mogą przed zdiagnozowaniem osiągać duże rozmiary a leczenie gruczolaków olbrzymich nadal jest technicznie bardzo trudne i wiąże się ze znacznym ryzykiem powikłań. W tym kontekście dużego znaczenia nabierają projekty badawcze zorientowane na patomechanizm powstawania i rozrostu gruczolaków przysadki, posiadające potencjał dla stworzenia nowych ścieżek terapeutycznych zorientowanych na określone szlaki metaboliczne biorące udział w patogenezie tego schorzenia. W powyższy nurt znakomicie wpisuje się praca doktorska mgr. Jadwigi Żebrackiej-Gali, która podejmuje bardzo istotny problem analizy profilu ekspresji genów w różnych typach guzów przedniego płata przysadki ze szczególnym naciskiem na

porównanie profilu molekularnego guzów nieczynnych hormonalnie w porównaniu do guzów hormonalnie czynnych.

Przedstawiona do recenzji rozprawa doktorska zawiera 148 stron tekstu, 20 tabel i 37 rycin podzielonych na rozdziały typowe dla dysertacji doktorskiej. Piśmiennictwo zawiera 129 pozycji literatury dobranej zgodnie z problematyką. Pozycje literaturowe praktycznie w całości mają charakter obcojęzyczny (jedynie ok. 8,5% z nich to pozycje autorów z Polski) co w istotny sposób podkreśla lukę w badaniach, którą w literaturze polskiej w znacznej części wypełni praca Doktorantki. Pewien niepokój budzi jedynie strona edytorska piśmiennictwa, którego lista nie jest prezentowana w sposób jednolity – niektóre pozycje (vide pozycja 16 i 129) różnią się istotnie formatowaniem, co wprowadza pewien nieład. Praca napisana jest ładną polszczyzną, zastrzeżenia budzi jedynie fakt, że Autorka stosunkowo często stosuje makaronizmy tam, gdzie mógłby zastosować polską terminologię (np. gruczolaki tyreotropinowe vs. guz wydzielających hormon tyreotropowy).

W rozbudowanym wstępie, uporządkowanym w logicznie uszeregowane podrozdziały Doktorantka początkowo przedstawia anatomię przysadki i kliniczną charakterystykę gruczolaków przysadki mózgowej wraz z wyczerpującym przedstawieniem klasyfikacji tych guzów z uwzględnieniem systemów opartych o badania histopatologiczne i obecność komórek hormonalnie czynnych. Kolejne podrozdziały poświęcone są molekularnemu podłożu gruczolaków przysadki oraz zaawansowanym metodom wysokoprzepustowym w badaniach z zakresu biologii molekularnej guzów przysadki ze szczególnym naciskiem na zastosowanie badań mikromacierzowych do profilowania ekspresji genów gruczolaków przysadki. Zastrzeżenia budzi tutaj jedynie relatywnie niewielka ilość rycin, które w przypadku prezentacji zagadnień z zakresu anatomii i histopatologii w istotny sposób ułatwiłyby czytelnikowi zapoznanie się ze złożonymi zagadnieniami ujętymi we wstępie.

W części badawczej, w rozdziale poświęconym celom pracy mgr Żebracka-Gala w sposób klarowny definiuje główny cel dysertacji jakim była ocena profilu ekspresji genów w różnych typach guzów przedniego płata przysadki ze szczególnym uwzględnieniem profilu molekularnego guzów nieczynnych hormonalnie w stosunku do guzów czynnych. Uzupełniającymi celami proponowanej przez Doktorantkę analizy jest sprawdzenie przydatności różnych modeli analizy dla potrzeb oceny profilu ekspresji genów w guzach przysadki z zastosowaniem metod transkryptomicznych oraz niezależna weryfikacja różnic w ekspresji genów FOLR1, BAG1, i LAPTM4B, których udział w transformacji nowotworowej guzów przysadki został niedawno zaproponowany.

W kolejnym rozdziale – poświęconym Części Doświadczalnej Autorka przedstawia organizację badań, kryteria pozyskiwania i przechowywania materiału do badań oraz bardzo szczegółowo charakteryzuje zastosowane metody analityczne (metodykę izolacji RNA, oceny ilościowej i jakościowej uzyskanego RNA, zastosowaną metodykę syntezy cDNA oraz QPCR i wreszcie oceny ekspresji genów przy pomocy mikromacierzy DNA) wraz ze stabelaryzowanymi danymi dotyczącymi zastosowanych urządzeń i odczynników. W opinii recenzenta w tym rozdziale ułatwieniem dla czytelnika byłoby wyłączenie osobnego podrozdziału poświęconego zastosowanym narzędziom i metodom statystycznym. Zaskakującym jest również rezygnacja z prezentacji jakichkolwiek danych demograficznych analizowanej populacji pacjentów co mogłoby wzbogacić prezentowane dane ułatwiając ich ocenę w aspekcie klinicznym.

W rozdziale poświęconym wynikom, początkowo mgr Żebracka-Gala szczegółowo omawia ekspresję genów markerowych dla poszczególnych typów i podtypów gruczolaków przysadki – ten podrozdział jest bardzo rozbudowany i bogato ilustrowany za pomocą licznych tabel i rycin, dlatego też bardzo wartościowym jest uzupełnienie go o znajdujące się na końcu podsumowanie uzyskanych wyników, które ułatwia czytelnikowi wychwycenie i zapamiętanie różnic stwierdzonych w trakcie badań. Następnie Doktorantka szczegółowo opisuje przebieg analizy bioinformatycznej wyników uzyskanych przy pomocy mikromacierzy DNA bogato ilustrując je przy pomocy tabel i rycin – w opinii recenzenta, tutaj również przydatnym byłby podobny do zawartego we wcześniejszym podrozdziale akapit podsumowujący uzyskane wyniki. Następnie mgr Żebracka-Gala przedstawia rezultaty walidacji uzyskanych wyników mikromacierzowych za pomocą ilościowego PCR w czasie rzeczywistym. Szczególnie interesującym aspektem przeprowadzonych badań jest jednak zaprezentowane w kolejnym podrozdziale porównanie profilu ekspresji genów w gruczolakach przysadki z profilami ekspresji w gruczolakach pęcherzykowych tarczycy oraz gruczolakach przytarczyc przeprowadzone za pomocą mikromacierzy DNA z następczą, rozbudowaną analizą bioinformatyczną uzyskanych wyników, która pozwoliła na wydzielenie dosyć wąskiej grupy 4 genów (ACTN1, PDLIM7, MAT2A i TCEAL4), które mogą potencjalnie być genami charakterystycznymi dla hormonalnie nieczynnych gruczolaków przysadki. W ostatnim podrozdziale Wyników Autorka przedstawia szczegółową ocenę ilościową ekspresji genów wytypowanych jako charakterystyczne dla procesu nowotworzenia w gruczolakach przysadki na podstawie wcześniejszych publikacji – tutaj również na korzyść czytelnika z całą pewnością zadziałałoby umieszczenie na końcu podrozdziału krótkiego podsumowania uzyskanych wyników.

W dyskusji Autorka rekapitułuje uzyskane wyniki na tle doniesień literaturowych i konfrontuje uzyskane wyniki z rezultatami badań innych autorów przyjmując dogodną dla czytelnika konwencję analizy poszczególnych aspektów wyników pod kątem wcześniej zaplanowanych i podsumowanych we wstępie do dyskusji celów badawczych. Szczególnie interesujące wydają się być obserwacje Doktorantki wskazujące na fakt, że grupy funkcjonalnych i niefunkcjonalnych gruczolaków przysadki nie są w pełni rozłączne w aspekcie profilu ekspresji genów uzyskanego metodami mikromacierzowymi, niemniej jednak da się wytypować potencjalne geny markerowe różnicujące te dwie grupy, ale są to nowe geny dotychczas nie analizowane pod kątem ich roli w procesie transformacji nowotworowej gruczolaków przysadki. Również dyskusja wyników analizy porównawczej profili genetycznych niewydzielniczych gruczolaków przysadki i innych gruczolaków endokrynnych doprowadziła do istotnych wniosków wskazujących na nieprzydatność tego modelu dla zrozumienia biologii guzów przysadki. Wydaje się jednak, że dyskusja uzyskanych wyników mogłaby zyskać wiele na uzupełnieniu danych o charakterystykę kliniczną badanej populacji pacjentów, szczególnie pod kątem wskazania nowych, potencjalnych obszarów badawczych do eksploracji w ramach przyszłych projektów.

We wnioskach będących podsumowaniem przeprowadzonej wcześniej analizy naukowej Autorka podkreśla, że różnice w profilach molekularnych guzów przysadki czynnych i nieczynnych hormonalnie są bardzo wyraźne i dotyczą różnych genów biorących udział w różne procesy biologiczne, nie tylko produkcję hormonów. Interesujący jest również fakt, że przeprowadzona przez Doktorantkę analiza potencjalnych genów markerowych wykazała, że jedynie regulacja ekspresji *GH* i *POMC* zachodzi na poziomie transkrypcji a sam proces transformacji nowotworowej w przypadku gruczolaków przysadki w sposób istotny odbiega od zmian zachodzących w procesie nowotworzenia łagodnych guzów endokrynnych w innych lokalizacjach takich jak gruczolaki przytarczyc czy gruczolaki pęcherzykowe tarczycy. Ponad to analizując proponowane w literaturze geny markerowe mgr Żebracka-Gala potwierdziła, że gen *FOLR1* wykazuje wyższą ekspresję w gruczolakach niefunkcjonalnych, podczas gdy gen *BAG1* w gruczolakach funkcjonalnych, ale zmiany te nie są dominujące w całym profilu ekspresji genów w w/w guzach.

Całość rozprawy doktorskiej mgr Jadwigi Żebrackiej-Gali oceniam wysoko, Doktorantka dowiodła, że jest badaczem potrafiącym dobrać ciekawy temat badawczy o dużym znaczeniu poznawczym. Zebrany materiał został w prawidłowy sposób przeanalizowany oraz stał się podstawą do wyciągnięcia prawidłowych, logicznych wniosków. W związku z powyższym zwracam się do Rady Dyscypliny Nauk Medycznych Narodowego

Instytutu Onkologii im. M. Skłodowskiej-Curie, Państwowego Instytutu Badawczego,
Oddziału w Gliwicach o dopuszczenie mgr. Jadwigi Żebrackiej-Gali do dalszych etapów
przewodu doktorskiego.

prof. hab. dr hab. R. K.