

Prof. zw. dr hab. Anna Goździcka-Józefiak
Instytut Biologii Eksperymentalnej
Uniwersytet im. Adama Mickiewicza
w Poznaniu

OCENA

rozprawy doktorskiej Pana mgra inż. BARTOSZA ADAMA FRYCZA

„Badanie ekspresji wybranych genów zaangażowanych w metabolizm hormonów steroidowych w raku żołądka”

wykonanej w Katedrze oraz Zakładzie Biochemii i Biologii Molekularnej
Uniwersytetu Medycznego im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu
pod kierunkiem Pana Prof. dra hab. Pawła Jagodzińskiego.

Rak żołądka (GC) jest jednym z najczęściej występujących nowotworów złośliwych u ludzi. Jego słabo poznana etiologia sprawia, że do rozpoznania choroby dochodzi wówczas, kiedy jest znacznie zaawansowana klinicznie. Poznanie przyczyn powstawania tego nowotworu ma ważne znaczenie dla opracowania skutecznej jego terapii i diagnostyki. Liczne badania kliniczne i epidemiologiczne wskazują, że istotne znaczenie w powstawaniu raka żołądka mają predyspozycje genetyczne, czynniki środowiskowe, żywieniowe i hormonalne. W zagadnienia te doskonale wpisuje się rozprawa doktorska mgra inż. Bartosza Frycza. Podstawę badań Autora rozprawy stanowiły dane kliniczne wskazujące na większą zachorowalność na raka żołądka mężczyzn niż kobiet, a także obecność receptorów androgenowych i estrogenowych w prawidłowych, jak i nowotworowych komórkach raka żołądka, co sugerowało, że hormony steroidowe mogą odgrywać ważną rolę w rozwoju tej odmiany raka. Hormony steroidowe są syntetyzowane w komórkach gonad, nadnercza, a także w wątrobie, jelicie, tkance tłuszczowej, skórze, mózgu i nerkach, z udziałem takich enzymów steroidogennych, jak: sulfataza steroidowa (STS), aromataza (CYP19A1) dehydrogenazy 17 beta (HSD17Bs) i 3 beta (HSD3Bs) hydrokorykosteroidowych, których poziom ekspresji zmienia się w komórkach nowotworowych różnych typów.

Z powyższych względów mgr inż. Bartosz Frycz jako cel swoich badań postanowił zanalizować ekspresję genów: kodujących HSD17B2 i dehydrogenazę 17 beta hydrokorykosteroidową typu piątego (AKR1C3), CYP19A1, STS, HSD17B7 i HSD3B1 w komórkach śluzówki żołądków zmienionych nowotworowo i prawidłowych.

Analizę tę przeprowadził zarówno na poziomie mRNA, jak i białka. Ponadto, w obydwu typach śluzówek żołądka oznaczył poziom ekspresji genów kodujących receptor estrogenowy alfa i beta (ESR2) oraz receptor androgenowy (AR) na poziomie mRNA, jak również ich koregulatorów: białka typu pierwszego bogatego w prolinę, kwas glutaminowy i leucynę (PLP1), białka wiążącego CREB, koaktywatora typu pierwszego receptora steroidowego (NCOA1), korepresora typu pierwszego

receptora steroidowego (NCOR1) i czynnika transkrypcyjnego typu pierwszego kontrolującego promotor owoalbuminy kurczęcia, położony w górę ścieżki sygnałowej (NR2F1). O szersze wyjaśnienie ostatniego celu badawczego poproszę Doktoranta podczas obrony rozprawy.

Mgr inż. Bartosz Frycz zanalizował także wpływ inhibitora deacetylaz histonowych, maślanu sodu (nabu) na poziom mRNA oraz białka genu *AKR1C3* w komórkach linii EPG85-257 i HGC-27 wywodzących się z komórek raka żołądka.

Cel wszystkich badań został jasno określony i konsekwentnie zrealizowany. Wyniki tych badań Doktorant przedstawiał w trzech pracach eksperymentalnych:

1. Frycz B.A., Murawa D., Borejsza-Wysocki M., Marciniak R., Murawa P., Drews M., Jagodziński P., Expression of 17 beta-hydroxysteroid dehydrogenase type 2 is associated with some clinicopathological features in gastric cancer, *Biomedicine and Pharmacotherapy* 2015, 70, 24-27

2. Frycz B.A., Murawa D., Borejsza-Wysocki M., Wichtowski M., Spychała A., Marciniak R., Murawa P., Drews M., Jagodziński P., Transcript level of *AKR1C3* is down-regulated in gastric cancer, *Biochemistry and Cell Biology* 2016, 94, 138-146

3. Frycz B.A., Murawa D., Borejsza-Wysocki M., Wichtowski M., Spychała A., Marciniak R., Murawa P., Drews M., Jagodziński P., mRNA expression of selected genes encoding steroidogenic enzymes, steroid hormone receptors and their co-regulators in gastric cancer, *Oncology Letters* DOI:3892/01xxxxxx, 2016

W skład pracy doktorskiej mgr inż. B.A. Frycza wchodzi także praca przeglądowa:

4. Frycz B.A., Jagodziński P., Intracrinology and gastric cancer, zaakceptowana do publikacji w *Journal Medical Science*.

Sumaryczny współczynnik wpływu prac składających się na rozprawę doktorską mgr inż. Bartosza Frycza wynosi - 5.335, co odpowiada 70 pkt. MNiSW.

Do cyklu publikacji dołączono ponadto streszczenie rozprawy doktorskiej w języku polskim i angielskim, objaśnienia do stosowanych w publikacjach skrótów, zgoda współautorów prac przedstawionych do stopnia doktora na wykorzystanie danych publikacji do doktoratu, opinia Promotora rozprawy stwierdzająca, że „załączone prace nie były wykorzystane jako cykl prac będących podstawą rozprawy doktorskiej przez innych współautorów” oraz zgoda Komisji Bioetycznej na prowadzenie badań, wydana przez Komisję Uniwersytetu Medycznego im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu.

Rozprawa doktorska oraz niezbędna do jej oceny dokumentacja zostały bardzo starannie przygotowane, co znacznie ułatwiło mi ocenę pracy.

Mimo że wszystkie prace Doktoranta są wieloautorskie, nie mam wątpliwości, że udział w badaniach molekularnych mgr inż. B.A. Frycza był dominujący, a rola współautorów ograniczała się przede wszystkim do zebrania i opisanie materiału klinicznego oraz pomocy w planowaniu badań. Nie umniejsza to wartości merytorycznej przedstawionych badań, a wręcz przeciwnie – jakość materiału klinicznego ma ogromny wpływ na powodzenie badań molekularnych. W badaniach tych Doktorant posługiwał się najnowszymi technikami biologii molekularnej, tj. RQ-PCR, Western blotting, badaniami na liniach komórkowych. Techniki te były właściwie dobrane do wytyczonych celów badawczych.

Rozprawę doktorską mgr inż. B.A. Frycz wykonał będąc studentem Studium Doktoranckiego w Katedrze oraz Zakładzie Biochemii i Biologii Molekularnej Uniwersytetu Medycznego im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu. W pierwszej pracy załączonego cyklu (Frycz B.A. i wsp., *Biomedicine and Pharmacotherapy*, 2015) mgr inż. B.A. Frycz wykazał, że w komórkach nowotworowych raka żołądka (GC) ekspresja genu *HSD17B2* jest obniżona zarówno na poziomie mRNA, jak i białka u mężczyzn oraz kobiet w porównaniu z komórkami prawidłowymi. Poziom ekspresji *HSD17B2* był także zależny od stanu zaawansowania choroby. W drugiej pracy (Frycz B.A. i wsp., *Biochemistry and Cell Biology*, 2016) prezentowane są wyniki badań Doktoranta nad ekspresją genu *AKR1C3*, którego produkt białkowy odgrywa główną rolę w metabolizmie androgenu i estrogenu.

W komórkach raka żołądka mgr inż. B.A. Frycz stwierdził wyraźny spadek ekspresji tego genu zarówno na poziomie mRNA, jak i białka w porównaniu z komórkami prawidłowymi. Ponadto, było to zależne od lokalizacji i stopnia klinicznego zaawansowania GC. Następnie w komórkach z linii EPG 85-257 i HGC-27, wyprowadzonych z GC, zanalizował wpływ maślanu sodu (NaBu), inhibitora deacetylaz histonowych (HDAC) na poziom ekspresji *AKR1C3*. Badania te wykazały, że NaBu powoduje wzrost ekspresji *AKR1C3* zarówno na poziomie mRNA, jak i białka. Ponadto, w hodowlach obu komórek obserwowano spadek proliferacji i żywotności komórek. Wynik ten może mieć istotne znaczenie dla terapii GC. W trzeciej z prac (Frycz i współ., *Oncology Letters* 2016) załączonego cyklu Doktorant przedstawił wyniki z analizy ekspresji genów kodujących enzymy biorące udział w steroidogenezie, takich jak: sulfataza steroidowa (STS), hydroksy-delta 5 steroido dehydrogenaza 3 beta i steroido-delta izomeraza 1 (HSD3B1), 17 betahydroksysteroido dehydrogenaza typu 7 aromatazę CYP19A1 w komórkach GC pobranych pooperacyjnie od 60. pacjentów. Poza tym, zanalizował ekspresję receptora estrogenowego alfa i beta, receptora androgenowego oraz ich koregulatorów: białka 1 bogatego w prolinę, kwas glutaminowy, leucynę (PELP1), białka wiążącego CREB, koaktywatora receptora jądrowego 1 (NCOA1), białka korepresora jądrowego 1 (NCOR1) receptora jądrowego z podrodziny 2 grupy F (NR2F1). Podjęcie tych badań uważam za bardzo istotne dla lepszego zrozumienia funkcjonowania hormonów steroidowych w rozwoju raka żołądka. Podobnie jak w przypadku poprzednio badanych genów, mgr inż. B.A. Frycz stwierdził znacząco obniżony poziom ekspresji genów *STS*, *HSD3B1*, *ESR2*, *AR*, *NCOA1* i *NCOR1* na poziomie mRNA w komórkach GC w porównaniu z komórkami tkanki prawidłowej, natomiast znacznie wyższy poziom *CYP19A1* w GC niż w komórkach tkanki prawidłowej.

Analiza uzyskanych danych z danymi klinicznymi stopnia zaawansowania nowotworu wskazywała, podobnie jak w poprzednich badaniach, że hormony steroidowe mogą odgrywać istotną rolę w rozwoju raka żołądka. Potwierdzenie tej sugestii wymaga jednak podjęcia dalszych badań. Jakich? Odnośnie tej kwestii liczę na propozycje Doktoranta. Podczas lektury załączonych publikacji nasunęło mi się pytanie: Jak przedstawia się poziom hormonów steroidowych i ich prekursorów w surowicy oraz tkankach badanych chorych i zdrowych? Jak poziom ten ulega zmianie wraz z wiekiem?

W czwartej pracy załączonego cyklu (Frycz B.A., Jagodziński P., *Journal of Medical Science*, 2016) Doktorant dokonał podsumowania dotychczasowej wiedzy naukowej na temat ekspresji genów zaangażowanych w metabolizm hormonów steroidowych w tkankach prawidłowych i zmienionych nowotworowo w GC, opartej na najnowszej literaturze przedmiotu. Praca ta pozwala na skonfrontowanie dotychczasowych danych literaturowych dotyczących GC z wynikami badań Doktoranta. Rozprawę doktorską mgra inż. Bartosza A. Frycza oceniam bardzo wysoko.

Przedstawiony cykl prac obrazuje szeroki zakres badań, jakie przeprowadził Doktorant nad analizą ekspresji wybranych enzymów i innych białek zaangażowanych w steroidogenezę w raku żołądka. Uzyskane wyniki tych badań mają ważny aspekt poznawczy, jak i kliniczny oraz nakreślają nowe perspektywy dla dalszych badań. Wszystkie dane eksperymentalne zostały opublikowane w czasopiśmie naukowym o szerokim zasięgu międzynarodowym, co wskazuje na ich wysoki poziom merytoryczny oraz istotne znaczenie naukowe i kliniczne.

W mojej ocenie rozprawa doktorska mgra inż. Bartosza Adama Frycza spełnia wszystkie kryteria określone w Ustawie z 14 marca 2003 roku o stopniach naukowych i tytule naukowym (DzU nr 65, poz. 595). Z powyższych względów zwracam się zatem do Wysokiej Rady Wydziału Uniwersytetu Medycznego w Poznaniu o dopuszczenie mgra inż. Bartosza Adama Frycza do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Równocześnie, mając na uwadze wysoki poziom merytoryczny badań mgra inż. Bartosza A. Frycza i ich znaczenie poznawcze, jak również kliniczne, zwracam się do Wysokiej Rady Wydziału Lekarskiego Uniwersytetu Medycznego w Poznaniu o rozważenie możliwości wyróżnienia ocenionej rozprawy doktorskiej stosowną nagrodą.


Prof. zw. dr hab. Anna Goździcka-Józefiak

