

Dr hab. n. med. Bohdan Górski

Szczecin 10.05.2017

Katedra Onkologii Pomorskiego Uniwersytetu Medycznego

Zakład Genetyki i Patomorfologii PUM

ul. Połabska 4

70-115 Szczecin

Recenzja

rozprawy doktorskiej mgr inż. Bartosza Adama Frycza pt.

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

Rozprawa na stopień naukowy doktora nauk medycznych w dyscyplinie: biologia medyczna, została wykonana w Katedrze i Zakładzie Biochemii i Biologii Molekularnej Uniwersytetu Medycznego im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu pod kierunkiem Pana Prof. dr hab. Pawła Piotra Jagodzińskiego.

Podstawą ocenianej rozprawy doktorskiej są cztery publikacje:

1. Bartosz Adam Frycz, Dawid Murawa, Maciej Borejsza-Wysocki, Ryszard Marciniak, Paweł Murawa, Michał Drews, Paweł Piotr Jagodziński; **Expression of 17 β -hydroxysteroiddehydrogenasetype 2 is associated with some clinicopathological features In gastrin cancer**; Biomedicine and Pharmacotherapy 2015, 70:24-7.
2. Bartosz Adam Frycz, Dawid Murawa, Maciej Borejsza-Wysocki, Mateusz Wichtowski, Arkadiusz Spychała, Ryszard Marciniak, Paweł Murawa, Michał Drews, Paweł Piotr Jagodziński; **Transcript level of AKR1C3 is down-regulated In gastric cancer**; Biochemistry and Cell Biology 2016, 94(2):138-46
3. Bartosz Adam Frycz, Dawid Murawa, Maciej Borejsza-Wysocki, Mateusz Wichtowski, Arkadiusz Spychała, Ryszard Marciniak, Paweł Murawa, Michał Drews, Paweł Piotr Jagodziński; **mRNA expression of selected genes encoding steroidogenic enzymes, steroid hormone receptors and their co-regulators In gastrin cancer**; Oncology Letters-pracaprzedpublikacją
4. Bartosz Adam Frycz, Paweł Piotr Jagodziński; **Intracrinology and gastric cancer**; Journal of Medical Science 2017, 86(1)

Pan mgr inż. Bartosz Adam Frycz jest pierwszym autorem wszystkich czterech publikacji. Jego wiodącą rolę i wkład w prace potwierdzają dołączone oświadczenia współautorów oraz promotora rozprawy. Nadesłana rozprawa rozpoczyna się spisem treści oraz objaśnieniem



1

skrótów. Cykl trzech prac badawczych poprzedzono streszczeniem. Krótkie streszczenie poprzedza również pracę poglądową zamieszczoną w rozprawie. Końcowa część rozprawy zawiera kopie zgody komisji bioetycznej, oświadczeń współautorów zamieszczonych publikacji oraz informację o przyjęciu pracy poglądowej do publikacji.

Pomimo postępów onkologii, rak żołądka pozostaje w czołówce nowotworów obarczonych wysoką śmiertelnością. Stan ten uzasadnia intensyfikację badań nad biologią tego nowotworu celem optymalizacji obecnie stosowanych oraz stworzeniem nowych, efektywniejszych metod jego leczenia.

W większości populacji rak żołądka występuje dwukrotnie częściej u mężczyzn niż u kobiet, co sugeruje udział hormonów płciowych w rozwoju tej choroby. Wyniki opisywanych w piśmiennictwie prób odniesienia poziomów hormonów płciowych w surowicy z poziomem ekspresji receptorów dla tych hormonów w komórkach raka żołądka są niejednoznaczne i często pozostają we wzajemnym konflikcie. Zarówno estrogeny jak i androgeny mogą być wytwarzane nie tylko w gonadach, lecz także w tkankach obwodowych. Proces syntezy i lokalnego oddziaływania hormonów płciowych w tkance nowotworowej jest możliwym wyjaśnieniem powyższego fenomenu i stanowi obszar badań prezentowanych w rozprawie.

Przedmiotem pierwszej pracy była analiza poziomu mRNA i białka dehydrogenazy 17 β -hydroksysteroidowej typu drugiego (HSD17B2) w tkance guza nowotworowego oraz niezmięnionej chorobowo śluzówce żołądka. Badanie przeprowadzono na grupie liczącej 34 przypadki raka żołądka. Ocenę poziomu mRNA HSD17B2 przeprowadzono z użyciem reakcji odwrotnej transkrypcji oraz łańcuchowej reakcji polimerazy w czasie rzeczywistym z pomiarem fluorescencji barwnika interkalującego dwuniciowy DNA. Poziom ekspresji badanego transkryptu oceniano względem poziomu ekspresji transkryptu wzorcowego za który posłużyła deaminaza porfobilinogenu.

Ocenę poziomu białka HSD17B2 przeprowadzono techniką western blotz z użyciem specyficznych przeciwciał anti-HSD17B2 i anti-GAPDH oraz detekcji chemiluminescencyjnej.

Przeprowadzone analizy wykazały obniżony poziom mRNA i białka kodowanego przez gen *HSD17B2* w tkance nowotworowej w stosunku do poziomu ekspresji tego genu w niezmięnionej chorobowo błonie śluzowej żołądka.

Przedmiotem drugiej publikacji była ocena poziomu mRNA i białka dehydrogenazy 17 β -hydroksysteroidowej typu piątego (AKR1C3) w tkance guza nowotworowego oraz niezmięnionej chorobowo śluzówce żołądka. Badanie przeprowadzono na grupie liczącej 55 przypadków raka żołądka z użyciem technik opisanych w pierwszej ocenianej pracy. Jediną różnicą był wybór innych transkryptów wzorcowych względem których oceniano poziom mRNA genu *AKR1C3*.

W powyższej publikacji analizowano ponadto wpływ inhibitora deacetylaz histonowych - maślanu sodu na poziom mRNA i białka genu *AKR1C3* w liniach komórkowych raka żołądka EPG85-257 i HGC-27.

Uzyskane w toku analiz wyniki wskazują na obniżony poziom mRNA i białka AKR1C3 w tkance raka żołądka w porównaniu do poziomów w niez zmienionej chorobowo błonie śluzowej żołądka. Zaobserwowano, że efekt ten występował najsilniej w przypadku guzów o wysokim stopniu złośliwości i zaawansowania miejscowego.

W doświadczeniach z użyciem linii komórkowych wykazano stymulujący efekt maślanu sodu dodanego do medium hodowlanego na poziomy mRNA i białka AKR1C3. Obserwowany efekt nasilał się wraz ze wzrostem stężenia maślanu sodu dodanego do hodowli.

Przedmiotem trzeciej publikacji była ocena poziomu mRNA genów biorących udział w steroidogenezie oraz genów kodujących receptory hormonów płciowych wraz z koregulatorami ich ekspresji. W skład pierwszej grupy wchodziły mRNA genów - *STS*, *CYP19A1*, *HSD3B*, *HSD17B7*. Grupę drugą stanowiły mRNA receptorów *ESR1*, *ESR2*, *AR* wraz z regulatorami ich ekspresji - *PELP1*, *CREBBP*, *NCOA1*, *NCOR1*, *NR2F1*. Badania przeprowadzono na grupie 60 raków żołądka, analizując poziomy mRNA wyżej wymienionych genów w tkankach nowotworowych i niez zmienionej chorobowo błonie śluzowej żołądka. Poziomy mRNA badano z użyciem techniki zastosowanej w pierwszych dwóch pracach.

Większość analizowanych mRNA charakteryzowała się obniżonym poziomem w guzie nowotworowym w porównaniu z prawidłową śluzówką. Istotnie obniżony poziom wykazywały mRNA genów : *STS*, *HSD3B1*, *ESR2*, *AR*, *NCOA1* i *NCOR1*. Analiza poziomu mRNA *CYP19A1* (aromataza) wykazała podwyższony jego poziom w tkance raka żołądka w porównaniu z prawidłową tkanką.

Cykl publikacji kończy praca poglądowa będąca podsumowaniem wiedzy na temat ekspresji genów zaangażowanych w metabolizm hormonów steroidowych w obrębie prawidłowej i zmienionej nowotworowo śluzówki żołądka. Przedstawiono w niej schemat steroidogenezy w obrębie tkanek obwodowych, funkcję poszczególnych enzymów oraz wiedzę na temat czynników regulujących ich ekspresję.

Oceniana rozprawa doktorska jest bardzo dobrze wykonaną pracą badawczą wnoszącą nowe, ważne obserwacje dla naukowców zajmujących się problematyką raka żołądka. Praca wykonana jest z użyciem należycie zastosowanych, dobrze wystandaryzowanych metod badawczych, gwarantujących rzetelność przedstawionych wyników. Wobec powyższego trafność podjętych badań, ich aktualność oraz wpływ na rozwój wiedzy oceniam jako bardzo dobry.

W związku z tym, że wysoko oceniam poziom rozprawy doktorskiej i biorąc pod uwagę opublikowanie prac w renomowanych czasopismach specjalistycznych, wnoszę o wyróżnienie rozprawy doktorskiej Pana mgr inż. Bartosza Adama Frycza przez Wysoką Radę Wydziału Lekarskiego Uniwersytetu Medycznego im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu.

Bohdan Górski

Dr hab. n. med. Bohdan Górski