


Prof. dr hab. n. med. Maria Laszczyńska
Zakład Pielęgniarstwa
Państwowa Wyższa Szkoła Zawodowa
w Koszalinie
ul. Leśna 1

Szczecin, 05. 09. 2023r.

Dziekanat Wydziału Nauk o Zdrowiu

wpłynęło dnia 12.09.2023

RPK/8599/2023 

**Recenzja rozprawy doktorskiej mgr Agaty Daszkiewicz
pt. „Ocena morfologiczna i immunohistochemiczna receptorów
estrogenowych, progesteronowych, oksytocynowych
w macicy kobiet w ciąży wielopłodowej
oraz ocena ich profilu hormonalnego**

Praca wykonana w Zakładzie Położnictwa i Patologii Ciąży
Pomorskiego Uniwersytetu Medycznego w Szczecinie
pod kierunkiem dr hab. n. med. Olimpij Sipak -Szmigiel
Promotor pomocniczy: dr n. med. Marta Grabowska

Z analizy piśmiennictwa wynika, że badania związane z oceną receptorów steroidowych i oksytocynowych w macicy kobiet w ciąży wielopłodowej są potrzebne w celu lepszego zrozumienia zachodzących tam mechanizmów i ich wpływu na przebieg ciąży. Odkrycie zależności pomiędzy receptorami a profilami hormonalnymi może przyczynić się do lepszego poznania czynników ryzyka i możliwości leczenia powikłań ciąży wielopłodowej.

Dlatego Doktorantka podjęła się próby przeprowadzenia badań dotyczących oceny morfologicznej macicy i oceny immunohistochemicznej receptorów estrogenowych, progesteronowych i oksytocynowych w macicy kobiet w ciąży wielopłodowej.

Rozprawa doktorska mgr Agaty Daszkiewicz została dobrze zaplanowana. Praca liczy 65 stron i zawiera 6 tabel i 9 rycin. Podzielona jest 10 klasycznych rozdziałów: podstawy teoretyczne, uzasadnienie i cele badań, materiał i metody, wyniki, omówienie wyników i dyskusja, wnioski, piśmiennictwo, wykaz tabel, wykaz rycin i załączniki.

Na początku rozprawy Doktorantka bardzo dokładnie i przejrzysto przygotowała wykaz skrótów w języku polskim i angielskim oraz zamieściła streszczenie swojej pracy w języku polskim i angielskim.

Cytowane piśmiennictwo obejmuje 132 pozycje literatury, 48 prac jest w języku polskim, pozostałe publikacje są anglojęzyczne. Świadczy to o dobrej znajomości języka

angielskiego i umiejętności wyboru przez Autorkę odpowiednich publikacji do swojej pracy doktorskiej. Piśmiennictwo jest dobrze dobrane, a większość pozycji pochodzi z ostatnich piętnastu lat. Jest również kilka prac starszych pochodzących z lat 90. To co jest warte podkreślenia to prace w załączonym piśmiennictwie są cytowane poprawnie. Są w niektórych publikacjach drobne nieścisłości. Np. pozycje 7 i 15 ta sama książka jest podana dwa razy ale z innymi stronami.

W podstawach teoretycznych pracy, na 17 stronach, Doktorantka w sposób poglądowy i merytoryczny przedstawiła informacje, niezbędne do zrozumienia wyników badań swojej pracy oraz ich interpretacji. Podstawy teoretyczne podzieliła na 7 podrozdziałów, w których po krótkim wprowadzeniu opisała: macicę ludzką w okresie prokreacyjnym, zmiany w obrębie macicy w przebiegu ciąży, estrogeny, progesteron i oksytocynę oraz ich receptory jak również proces proliferacji.

Autorka bardzo poglądowo przedstawiła w podrozdziale **macica ludzka w okresie prokreacyjnym** informacje o budowie macicy ludzkiej w okresie prokreacyjnym oraz zmiany morfologiczne zachodzące w macicy w cyklu miesięcznym. Podrozdział ten wzbogaciła dobrej jakości, własnymi mikrofotografiami macicy wybarwionej metodą HE, przedstawiającymi endometrium i myometrium. Również ciekawie opisała Autorka **zmiany w obrębie macicy w przebiegu ciąży**.

W kolejnych podrozdziałach podstaw teoretycznych Doktorantka skupiła się na omówieniu aktualnego stanu wiedzy dotyczącego hormonów takich jak: estrogeny, progesteron i oksytocyna a także ich receptorów. W sposób schematyczny i merytoryczny Autorka zamieściła w tym podrozdziale dwie ryciny (ryc. 2 i 3) przedstawiające ścieżki sygnałowe aktywowane z udziałem błonowego receptora estrogenowego GPER oraz schemat budowy izoform jądrowego receptora progesteronu. W ostatnim podrozdziale 7. Doktorantka w sposób bardzo ciekawy i wyczerpujący opisała **proces proliferacji** i przedstawiła **charakterystykę białka Ki67**. Białko to jest wykorzystywane do oceny szybkości podziałów komórek w tkankach i jest markerem proliferacji tych komórek.

Podsumowując mogę stwierdzić, że informacje przedstawione w podstawach teoretycznych świadczą o oczytaniu Doktorantki i o umiejętności dobrego wykorzystania aktualnej literatury polskiej i anglojęzycznej podczas pisania tego rozdziału. Dlatego stwierdzam, że zarówno z naukowego, jak i poznawczego punktu widzenia, decyzja

Doktorantki o podjęciu prowadzonych badań dotyczących „Oceny morfologicznej i immunohistochemicznej receptorów estrogenowych, progesteronowych i oksytocynowych w macicy kobiet w ciąży wielopłodowej” jest jak najbardziej uzasadniona.

W kolejnym rozdziale rozprawy doktorskiej Autorka przedstawiła **uzasadnienie i cele swoich badań**, na które chciałyby uzyskać odpowiedzi. Głównym celem badań było określenie morfologii i immunoekspresji receptorów estrogenowego, progesteronowego i oksytocynowego w macicy kobiet w ciąży pojedynczej i bliźniaczej. Zdaniem recenzenta lepiej byłoby napisać, że głównym celem badań była ocena morfologii i immunoekspresji receptorów estrogenowych, progesteronowych i oksytocynowych w skrawkach macicy uzyskanych od kobiet w ciąży pojedynczej i bliźniaczej. Doktorantka przedstawiła również 6 poprawnych celów szczegółowych. W tym rozdziale Autorka przedstawiła także w tabeli 1 ciekawe zestawienie problemów badawczych i przypisanych im hipotez.

Rozdział **Materiał i metody**, zawarty na 4 stronach, został zdaniem recenzenta, przedstawiony poprawnie i szczegółowo. Autorka podzieliła go na 3 podrozdziały: 1. Charakterystyka grupy badanej, 2. Pobranie materiału, 3. Metody i narzędzia badawcze. Doktorantka zamieściła na stronie 32. zgodę Komisji Bioetycznej Pomorskiego Uniwersytetu Medycznego w Szczecinie (Uchwała nr KB- 0012/33/15) na wykonanie swoich badań.

Autorka prawidłowo przedstawiła **Charakterystykę grupy badanej** która liczyła 85 kobiet ciężarnych. Kobiety podzielono na dwie grupy, z ciążą pojedynczą 34 pacjentki i ciążą bliźniaczą 51 kobiet. Ostatecznie do badania włączono 30 kobiet w ciąży pojedynczej i 30 kobiet w ciąży bliźniaczej. Doktorantka przedstawiła również główne kryteria włączenia pacjentek do badań były to: ciąża i wiek powyżej 18. roku życia. Badania przeprowadzono w Samodzielnym Publicznym Szpitalu Klinicznym numer 2 Pomorskiego Uniwersytetu Medycznego w Szczecinie, w Klinice Położnictwa i Ginekologii. Doktorantka opisała również szczegółowo i prawidłowo procedurę **pobierania materiału** do badań zarówno krwi żyłnej jak i wycinków macicy.

W ostatnim podrozdziale **Metody i narzędzia badawcze** mgr Agata Daszkiewicz opisała Kwestionariusz autorski i podała go jako załącznik nr 1, natomiast w załącznikach jest on załącznikiem nr 2, jako ankieta socjodemograficzno – medyczna. W tym podrozdziale Autorka opisała również oznaczanie stężenia hormonów w surowicy, utrwalanie materiału do badań histologicznych i przedstawiła opis klasycznego barwienia skrawków hematoksyliną i eozyną.

Natomiast bardzo szczegółowo Doktorantka opisała procedurę badań immuno - histochemicznych dotyczącą określenia immunolokalizacji i immunoekspresji receptora estrogenowego, progesteronowego i oksytocynowego w skrawkach macicy badanych kobiet. Przedstawiła również bardzo czytelnie opis komputerowej analizy odczynów immunohistochemicznych.

Analiza statystyczna uzyskanych wyników została przeprowadzona przez Doktorantkę w oparciu o prawidłowo dobrane testy.

Bardzo pozytywnie oceniam zastosowane i opisane przez Autorkę metody i narzędzia badawcze przedstawione w swojej pracy doktorskiej.

Wyniki swoich badań Doktorantka przedstawiła szczegółowo na 8 stronach i podzieliła je na 5 podrozdziałów: 1 Dane socjodemograficzne, 2. Stężenia hormonów płciowych, 3. Ocena morfologiczna myometrium, 4. Immunolokalizacja i immunoekspresja białka Ki67, 5. Immunolokalizacja i immunoekspresja receptorów ER, PR i OXTR. Na str. 41 jest drobny błąd, podrozdział powinien mieć numerację 4.5 a jest 4.3. Dokumentację tych wyników stanowiło 6 rycin (ryc. 4 - 9) i 5 tabel (2-5).

Porównując stężenia hormonów płciowych w surowicy między badanymi grupami kobiet w ciąży pojedynczej i mnogiej Doktorantka nie wykazała różnic statystycznie istotnych w stężeniu estradiolu i progesteronu, natomiast u kobiet w ciąży mnogiej stwierdziła istotnie wyższe stężenie oksytocyny w surowicy w porównaniu do stężenia tego hormonu u pacjentek w ciąży pojedynczej. Ocena morfologiczna myometrium macicy pomiędzy badanymi grupami kobiet w ciąży pojedynczej i mnogiej nie wykazała istotnych zmian.

Z kolei u kobiet w ciąży mnogiej Autorka wykazała istotnie większy procent komórek Ki67-pozytywnych jak również istotnie większy procent komórek ER- i PR-pozytywnych w porównaniu do tych parametrów badanych u pacjentek w ciąży pojedynczej.

Natomiast u kobiet w ciąży mnogiej Doktorantka stwierdziła istotnie niższy procent komórek OTR-pozytywnych w porównaniu do tego parametru badanego u pacjentek w ciąży pojedynczej.

Pozytywnie oceniam zaprezentowane przez Autorkę wyniki swoich badań. Zostały one przedstawione w sposób przemyślany oraz, to co chciałabym podkreślić, udokumentowane rycinami dobrej jakości wraz z prawidłowymi podpisami. Sposób prezentacji wyników

świadczy o dobrym opanowaniu przez Doktorantkę warsztatu metodycznego niezbędnego do przedstawienia wyników swoich badań.

W rozdziale **Omówienie wyników i dyskusja**, liczącym 8 stron, Autorka bardzo ciekawie podjęła próbę interpretacji uzyskanych wyników, umiejętnie porównując je z wynikami uzyskanymi przez innych autorów. Rozdział ten napisała czytelnie i merytorycznie. W sposób rzeczowy omówiła i przedyskutowała wyniki swoich badań i uzasadniła potrzebę ich przeprowadzenia. To co jest warte podkreślenia dyskusję poprowadziła w 6 podrozdziałach.

Pozytywnie oceniam dyskusję podzieloną na podrozdziały, ponieważ Doktorantce łatwiej jest przedyskutować wyniki swoich badań w odniesieniu do tematów tych podrozdziałów.

W końcowej części pracy Autorka sformułowała 6 dobrze uzasadnionych **wniosek**. Są one odpowiedzią na pytania postawione w celu pracy:

1. Analiza stężeń hormonów płciowych w surowicy nie wykazała istotnych zmian stężenia estradiolu i progesteronu w zależności od rodzaju ciąży. Jednak zwiększone stężenie oksytocyny w surowicy kobiet w ciąży mnogiej może świadczyć o gotowości mięśnia macicy do porodu.
2. W macicy kobiet w ciąży pojedynczej i bliźniaczej w chwili rozwiązania stwierdzono zbliżone zmiany morfologiczne w myometrium, co świadczy o podobnym wpływie hormonów płciowych na strukturę trzonu macicy w obu typach ciąży.
3. Immunoekspresja receptora estrogenowego α i progesteronowego w myometrium macicy kobiet w ciąży bliźniaczej była wyższa w porównaniu do ciąży pojedynczej, co sugeruje większą wrażliwość na te hormony pod koniec ciąży u tych pacjentek.
4. Immunoekspresja receptora oksytocynowego w myometrium macicy kobiet w ciąży bliźniaczej była niższa w porównaniu do ciąży pojedynczej, co prawdopodobnie związane jest ze zmienną wrażliwością tego receptora w czasie ciąży.
5. W ścianie trzonu macicy kobiet w ciąży mnogiej wykazano wyższy odsetek proliferujących komórek myometrium, jednak nie było to związane z patogenezą rozrostu macicy.
6. Przeprowadzone badania mogą przyczynić się do uzyskania bardziej szczegółowych informacji, dotyczących różnic w regulacji hormonalnej oraz funkcji macicy w ciąży pojedynczej i mnogiej. Dalsze analizy w tym zakresie mogą pozwolić na opracowanie indywidualnych protokołów postępowania wraz z uwzględnieniem rodzaju ciąży, jej

stanów patologicznych i możliwych powikłań porodowych oraz planowania porodu w praktyce klinicznej.

Do pracy nie wnoszę zastrzeżeń merytorycznych. Uwagi recenzenta zostały już przedstawione wcześniej. Przedstawione uwagi dotyczą szczegółów i nie mają wpływu na bardzo dobrą ocenę pracy.

W podsumowaniu stwierdzam, że praca stanowi oryginalny dorobek Doktorantki. Dotyczy ona ważnych zagadnień związanych z poszerzeniem wiedzy na temat oceny morfologicznej i immunohistochemicznej receptorów estrogenowych, progesteronowych i oksytocynowych w macicy kobiet w ciąży wielopłodowej oraz oceny ich profilu hormonalnego.

Przedstawiona praca doktorska, napisana jest poprawnym językiem polskim i wskazuje na odczytanie i wiedzę Doktorantki w zakresie przeprowadzonych badań.

Po zapoznaniu się z rozprawą doktorską mgr Agaty Daszkiewicz stwierdzam, że rozprawa w pełni spełnia warunki określone w artykule 187 ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (t. j. Dz. U. z 2020 r. poz. 85 z póź. zm.). Dlatego zwracam się do Rady Naukowej Dyscypliny Nauki o Zdrowiu Pomorskiego Uniwersytetu Medycznego w Szczecinie o dopuszczenie Pani mgr Agaty Daszkiewicz do dalszych etapów przewodu doktorskiego i nadanie jej stopnia naukowego w dziedzinie Nauki Medyczne i Nauki o Zdrowiu w dyscyplinie Nauki o Zdrowiu.

Prof. dr hab. n. med. Maria Laszczyńska

