



Pomorski Uniwersytet Medyczny w Szczecinie

Zakład Położnictwa i Patologii Ciąży PUM

ul. Żołnierska 48, 71-210 Szczecin, tel. 91 49 00 951, fax. 91 48 00 978, e-mail: polpatc@pum.edu.pl

Kierownik Zakładu: Dr hab. n. med. Olimpia Sipak

dr hab. n. med. Olimpia Sipak
Zakład Położnictwa i Patologii Ciąży
PUM w Szczecinie
ul. Żołnierska 48

Szczecin, 12. 07. 2025r.

Z-ca Przewodniczącej

prof. dr hab. Tomasz Grzybowski

Recenzja rozprawy doktorskiej lek. Marcina Szymańskiego pt. „Znaczenie prognostyczne i funkcjonalne cyklin K i cykliny D1 w raku endometrium – ocena histopatologiczna i analiza *in silico*” na podstawie cyklu publikacji naukowych.

Praca wykonana w Katedrze Histologii i Embriologii i w Katedrze Patomorfologii Klinicznej Collegium Medicum im. Ludwika Rydygiera w Bydgoszczy

Uniwersytetu Mikołaja Kopernika w Toruniu

pod kierunkiem dr hab. n. med. i n. o zdr. Macieja Gagata prof. UMK

Promotor pomocniczy: dr n. med. Paulina Antosik

Rozprawa doktorska lek. Marcina Szymańskiego została przygotowana w trybie przewodu doktorskiego na podstawie cyklu publikacji naukowych, obejmujących badania nad molekularnymi uwarunkowaniami ekspresji cyklin K i D1 w raku endometrium. Całość pracy opiera się na 2 oryginalnych publikacjach opublikowanych w recenzowanych czasopismach naukowych:

1. **International Journal of Molecular Sciences (2025) IF=4,9; 2. Cancers (2025) IF=4,5**, z łącznym współczynnikiem **Impact Factor** wynoszącym **9.4**. Łączna liczba punktów wg **MNiSW 280**. Warte jest podkreślenia, że wszystkie te publikacje mają wysoki współczynnik wpływu IF powyżej 4.

Całościowy dorobek naukowy lek. Marcina Szymańskiego składa się z 6 publikacji w czasopismach z IF (**IF=24,5**) (w tym **IF=9.4** w cyklu prac stanowiących podstawę postępowania o nadanie stopnia doktora). Łączna liczba punktów wg **MNiSW: 830** (w tym **280** w cyklu prac stanowiących podstawę postępowania o nadanie stopnia doktora).

Prace (2 publikacje) składające się na osiągnięcie naukowe są oryginalnymi pracami doktoranta, w których jest On pierwszym autorem. W przedstawionej przez Kandydata dokumentacji znajdują się oświadczenia współautorów prac stwierdzające ich udział w publikacjach.

Prace lek. Marcina Szymańskiego są w ścisły i logiczny sposób ze sobą powiązane i dotyczą podanego wcześniej tematu: **Znaczenie prognostyczne i funkcjonalne cykliny K i cykliny D1 w raku endometrium – ocena histopatologiczna i analiza *in silico***. Doktorant omówił osiągnięcie naukowe (2 publikacje) w całości dzieląc je na: **wprowadzenie, założenia teoretyczne, cel badań, uczestnicy badań, metody badań, wyniki badań i komentarze do publikacji wchodzących w skład cyklu osiągnięcia naukowego**. Rozprawa została poprzedzona wyjaśnieniem „Źródła finansowania”, „Wykazem stosowanych skrótów”. Rozprawę kończą „Streszczenie” w języku polskim i angielskim oraz załączniki. Cytowane piśmiennictwo obejmuje 74 pozycje literatury, Piśmiennictwo jest dobrze dobrane, a 39 (52,7%) pozycji pochodzi z ostatnich pięciu lat. To co jest warte podkreślenia to prace w załączonym piśmiennictwie są cytowane poprawnie. Takie przedstawienie osiągnięcia naukowego przez Doktoranta, zdaniem recenzenta, pozwoliło całościowo spojrzeć na wyniki badań przedstawione w 2. publikacjach. W przedstawionej do recenzji rozprawie nie występuje osobny rozdział „Dyskusja”, który zastąpiono rozdziałem „Komentarze do publikacji wchodzące w skład osiągnięcia naukowego”. Dyskusja zawarta jest w każdym z tych artykułów.

Autor napisał, że rak endometrium (ang. endometrial cancer, EC) jest najczęstszym złośliwym nowotworem ginekologicznym występującym w krajach rozwiniętych. Dotyczy przede wszystkim kobiet po menopauzie, a mediana wieku w chwili rozpoznania wynosi 60 lat. Częstość jego występowania stale rośnie. EC najczęściej objawia się nieprawidłowym krwawieniem z dróg rodnych - zwłaszcza po menopauzie - nawet minimalne plamienie w tej populacji może zwiastować nowotwór złośliwy. Współczesne podejście do oceny stopnia zaawansowania EC łączy klasyczne kryteria anatomiczne z nowymi odkryciami molekularnymi, co pozwala na zwiększenie precyzji prognozowania oraz lepszą stratyfikację leczenia. Patogeneza EC ma charakter wieloczynnikowy i obejmuje szereg zaburzeń genetycznych oraz molekularnych, które prowadzą do niekontrolowanej proliferacji komórek endometrium. Wśród nich szczególne zainteresowanie badaczy budzi dysregulacja białek regulatorowych cyklu komórkowego, zwłaszcza cyklin. Cyklina D1, odgrywająca kluczową rolę w przejściu komórek z fazy G1 do fazy S. Z kolei cyklina K, choć dotychczas mniej poznana, wydaje się pełnić istotną funkcję w regulacji transkrypcji oraz kontroli cyklu komórkowego.

Jak podkreśla Doktorant, inspiracją do podjęcia badań była ocena roli cykliny D1 i cykliny K w raku endometrium, analizując ich mechanizmy molekularne, powiązania ze stopniem zaawansowania choroby, znaczenie kliniczne oraz wartość prognostyczną.

Należy podkreślić, że Doktorant w sposób merytoryczny przedstawił założenia swoich badań i postawił sobie ambitne cele badawcze, które przedstawił zwięźle i rzeczowo uwzględniając publikacje w których te cele występowały.

Głównym celem badań prowadzonych przez Doktoranta, których wyniki zostały przedstawione w 2. publikacjach wchodzących w skład jednotematycznego osiągnięcia naukowego,

było określenie znaczenia prognostycznego oraz potencjalnych funkcji cykliny D1 (CCND1) (publikacja1) oraz cykliny K (CCNK) (publikacja2) w raku endometrium poprzez: porównanie poziomu ekspresji CCND1(publikacja1) oraz CCNK (publikacja2) w rakach endometrium i histologicznie normotypową błoną śluzową trzonu macicy, analizę zależności ekspresji CCND1(publikacja1) oraz CCNK (publikacja2) z cechami kliniczno-patologicznymi, przeżyciem pacjentek, ocenę potencjału CCND1(publikacja1) oraz CCNK (publikacja2) jako biomarkera prognostycznego i potencjalnego celu terapeutycznego.

Lek. Marcin Szymański opisał również szczegółowo **materiał (uczestnicy badań) i metody badań**. W części eksperymentalnej badania wykorzystano archiwalny materiał tkankowy pochodzący z Katedry Patomorfologii Klinicznej Collegium Medicum im. Ludwika Rydygiera w Bydgoszczy Uniwersytetu Mikołaja Kopernika w Toruniu, pozyskany zgodnie z decyzją Komisji Bioetycznej (KB/87/2020). W badaniach wzięto udział 128 pacjentek z histologicznie potwierdzonym rozpoznaniem EC, które przeszły leczenie operacyjne w Klinice Położnictwa, Chorób Ginekologicznych i Ginekologii Onkologicznej Szpitala Uniwersyteckiego nr 2 im. dr. Jana Biziela w Bydgoszczy. Średni wiek pacjentek wynosił 66,2 roku, i przedziale wiekowym od 40 do 84 lat. Materiał kontrolny pochodził od 30 pacjentek po histerektomii z powodu mięśniaków macicy.

Doktorant opisał dobrze zaplanowane i dobrane techniki badawcze, które pozwoliły na zrealizowanie wszystkich założonych celów badawczych, wykorzystując metody immunohistochemiczne oraz analizy *in silico* oparte na danych z bazy The Cancer Genome Atlas (TCGA) (**publikacja nr1 i publikacja nr2**). Analiza statystyczna w obu publikacjach została przeprowadzona przez Autora przez odpowiednio dobrane testy.

Lek. Marcin Szymański wyniki swoich badań przedstawił uwzględniając kluczowe zmienne kliniczne i patologiczne. Ze względu na heterogeny charakter badanej populacji i ograniczoną liczebność poszczególnych podgrup klasyfikacji FIGO, zastosowano uproszczoną klasyfikację.

Autor do najistotniejszych wyników, w publikacji nr 1, wykazał: (1) jądrową lokalizację CCND1 zarówno w tkankach prawidłowych, jak i nowotworowych, przy czym najwyższą ekspresję zaobserwowano w przypadkach raka surowiczego, (2) nie stwierdzono istotnych statystycznie różnic w ekspresji CCND1 pomiędzy grupą badaną a kontrolą, ani w poszczególnych podtypach histologicznych, (3) wysoką ekspresję białka CCND1, która była obserwowana w większości przypadków, niezależnie od cech kliniczno-patologicznych.

W części bioinformatycznej : (4) istotnie wyższą ekspresję mRNA CCND1 w rakach endometrium w porównaniu do tkanek prawidłowych, (5) niższy poziom transkryptów CCND1 wiązał się z gorszym rokowaniem u pacjentek z typem endometrioidalnym raka, (6) wśród silnie skorelowanych genów znalazły się m.in. gen SPRY2 (ang. Sprouty RTK signaling antagonist 2, SPRY2), gen SPRY4 (ang. Sprouty RTK signaling antagonist 4, SPRY4) i czynnik transkrypcyjny ETS variant 4

(ang. ETS Variant Transcription Factor 4, *ETV4*), (7) aktywacja szlaku Wnt/ β -katenina w typie I oraz zaburzenia w szlakach p53 i ErbB w typie II związana była z nadekspresją *CCND1*.

Autor w publikacji nr 2 wykazał: (1) wyższą ekspresję *CCNK* w tkankach nowotworowych w porównaniu do tkanek prawidłowych, (2) wysoka ekspresja białka *CCNK* była skorelowana z zaawansowanym stadium nowotworu (ang. pathological Tumor stage, pT) oraz wyższym stopniem zaawansowania FIGO, (3) wysoką ekspresję *CCNK*, która była istotnie związana z gorszym rokowaniem w całej kohorcie pacjentek z rakiem endometrium- szczególnie w podtypach nieendometrioidalnych.

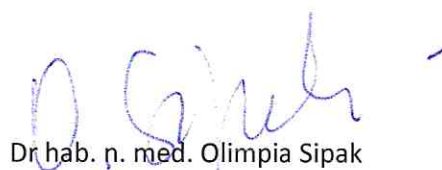
W części bioinformatycznej : (4) istotne wyższą ekspresję transkryptu *CCNK* w podtypach nieendometrioidalnych w porównaniu do tkanek prawidłowych, (5) silne powiązania *CCNK* z genami biorącymi udział w metabolizmie RNA, regulacji transkrypcji oraz organizacji chromatyny, m.in. z genem związanym z demetylacją DNA (ang. AlkB Homolog 1, *ALKBH1*) i czynnikiem transkrypcyjnym Yin Yang 1 (ang. Yin Yang 1, *YY1*), (6) udział *CCNK* w transkrypcji zależnej od polimerazy RNA II, naprawa DNA oraz kontrola podziałów komórkowych, (7) *CCNK* może uczestniczyć w regulacji genów odpowiedzialnych za odpowiedź na uszkodzenia DNA.

Podsumowując w publikacjach 1 i 2 w rozdziale „Wnioski” Doktorant kończy część merytoryczną siedmioma poprawnie sformułowanymi wnioskami odzwierciedlającymi główne cele prac oraz poszczególne cele podjętych badań.

1. Zarówno *CCND1* (na poziomie mRNA), jak i *CCNK* (na poziomie mRNA i białka) wykazują zmienioną ekspresję w EC w porównaniu do histologicznie prawidłowej błony śluzowej trzonu macicy, co potwierdza ich udział w patogenezie nowotworu.
2. Ekspresja obu cyklin jest związana z cechami kliniczno-patologicznymi EC, przy czym *CCNK* korelowała istotnie z zaawansowaniem choroby, natomiast *CCND1* wykazywała zmienność ekspresji bez istotnych powiązań statystycznych z parametrami klinicznymi.
3. Wysoka ekspresja *CCNK* istotnie korelowała z gorszym rokowaniem pacjentek, szczególnie w agresywnych, nieendometrioidalnych podtypach EC, natomiast w przypadku *CCND1* zaobserwowano jedynie tendencję do takiej zależności.
4. Analizy *in silico* potwierdziły podwyższoną ekspresję mRNA *CCNK* i *CCND1* w EC, przy czym w przypadku *CCND1* wykazano rozbieżność pomiędzy poziomem transkryptu a białkiem, co może sugerować istnienie złożonych mechanizmów regulacji potranskrypcyjnej.
5. Zarówno *CCND1*, jak i *CCNK* są zaangażowane w szlaki regulujące cykl komórkowy, transkrypcję i odpowiedź na uszkodzenia DNA, co wskazuje na ich potencjalną rolę w progresji EC i oporności na leczenie.
6. Oba białka mogą stanowić potencjalne cele terapeutyczne, szczególnie w kontekście nowotworów o agresywnym przebiegu i ograniczonej skuteczności standardowego leczenia.

7. Istnieje potrzeba dalszych analiz funkcjonalnych i walidacyjnych, które pozwolą dokładniej określić mechanizmy działania CCND1 i CCNK oraz ich przydatność jako biomarkerów prognostycznych w EC.

W podsumowaniu recenzji wysoko oceniam osiągnięcie naukowe **lek. Marcina Szymańskiego pt. „Znaczenie prognostyczne i funkcjonalne cykliny K i cykliny D1 w raku endometrium – ocena histopatologiczna i analiza *in silico*”** składające się z cyklu 2 publikacji opublikowanych w renomowanych międzynarodowych czasopismach naukowych. Jest to wartościowy, spójny i rzetelnie zebrany materiał doświadczalny, który daje dobrą podstawę do dalszych badań i podstawę do wnioskowania o granty. Doktorant potrafił samodzielnie rozwiązać problem naukowy, określić cele badań, wykorzystać warsztat badawczy, bardzo sprawnie przeprowadzić zaplanowane badania i opublikować wyniki badań w czasopismach z wysokim IF. Autor w tych pracach dał się poznać jako osoba o dużej wiedzy oraz o dużym zaangażowaniu w swoją pracę naukową. Na podkreślenie zasługuje fakt, że Doktorant w obu publikacjach brał udział w opracowaniu koncepcji badań, wykonał analizę badań, brał udział w ocenie barwień, dokonał interpretacji wyników, przygotował i napisał manuskrypt. **Rozprawa doktorska spełnia wymogi określone aktualnymi przepisami i dlatego wnioskuję do Wysokiej Rady Dyscypliny Nauki Medyczne Collegium Medicum im. Ludwika Rydygiera w Bydgoszczy o dopuszczenie lek. Marcina Szymańskiego do dalszych etapów postępowania doktorskiego.** Ponadto, z uwagi na oryginalność przeprowadzonych badań, wysoką wartość poznawczą oraz wysoki dorobek naukowy, składam wniosek o wyróżnienie niniejszej pracy.



Dr hab. n. med. Olimpia Sipak
KIEROWNIK
Zakładu Położnictwa i Patologii Ciąży
dr hab. n. med. Olimpia Sipak