

Prof. dr hab. med. Grzegorz Jakiel  
I Klinika Położnictwa i Ginekologii  
Centrum Medycznego Kształcenia Podyplomowego  
w Warszawie

## **OCENA PRACY DOKTORSKIEJ**

Lek. Anny Zubrzyckiej

### **Ocena ekspresji wybranych genów oraz mikro-RNA regulujących przejście epitelialno-mezenchymalne (*ang. Epithelial-Mesenchymal Transition, EMT*) jako potencjalnych biomarkerów diagnostycznych w endometriozie**

„Endometrioza jest estrogenozależną i oporną na progesteron, neurozapalną, przewlekłą chorobą ginekologiczną występującą u kobiet. Charakteryzuje się ona obecnością struktur endometrium w tym gruczołów i zrębu poza jamą macicy” pisze Doktorantka powołując się na piśmiennictwo. Prace będące źródłem tej definicji pochodzą z drugiej dekady XXI wieku. Dzisiaj częściej pisze się o endometriozie jako chorobie układowej o niejasnym patomechanizmie, charakteryzującej się obok wspomnianego ektopowego endometrium zmianami zapalnymi, naczyniowymi i włóknieniem odnajdywanym w różnych tkankach i narządach. Ta zmiana podejścia skutkującego innym rozłożeniem akcentów w diagnostyce i leczeniu, nie tylko nie zmniejsza wartości przeprowadzonych przez Doktorantkę badań a wręcz przeciwnie dodaje im znaczenia, bo tak naprawdę dotyczą one mechanizmu powstania choroby, a nie jedynie znalezienia jej laboratoryjnego markera.

Przedłożona do oceny dokumentacja to cykl trzech prac, w tym dwóch oryginalnych i jednej przeglądowej opublikowanych w 2021 i 2023 roku, o łącznym Impact Factor 15.392, opatrzone obszernym wstępem i wspólnymi dla cyklu wnioskami lek. Anny Zubrzyckiej pod tytułem „**Ocena ekspresji wybranych genów oraz mikro-RNA regulujących przejście epitelialno-mezenchymalne (ang. *Epithelial-Mesenchymal Transition, EMT*) jako potencjalnych biomarkerów diagnostycznych w endometriozie**”.

Publikacje są wynikiem prac zespołu 4 osób – biochemików i klinicystów o znaczących pozycjach w świecie nauki. We wszystkich publikacjach Doktorantka jest pierwszym autorem a pozostali autorzy podpisali oświadczenie o Jej wiodącej roli w badaniach.

Badania zostały przeprowadzone na sparowanych próbkach endometrium eutopowego i ektopowego oraz krwi obwodowej 29 kobiet chorych na endometriozę oraz próbkach endometrium i krwi obwodowej 25 kobiet bez stwierdzonej endometriozy. Fakt, że dwie z trzech prac zostały opublikowane w czasopiśmie z 5 letnim IF wynoszącym 6.2 i należącym do Q1 w zakresie biochemii i biologii molekularnej zwalnia mnie z oceny metodyki, analizy statystycznej i prawidłowości wnioskowania ocenianych badań.

Chronologicznie pierwsza publikacja przeglądowa stanowiąca niejako wstęp do zagadnienia i bazę do własnych badań, dotyczy znaczenia krążących miRNA związanych z przejściem epitelialno-mezenchymalnym. Doktorantka ustaliła, że miRNA wpływają na główne ścieżki sygnałowe endometriozy. Różne miRNA mają różną ekspresję zależnie od pochodzenia z endometrium eutopowego czy ektopowego jak również od zdrowego endometrium zdrowych kobiet czy chorych na endometriozę. Szczególnie obiecujący badawczo wydaje się miR-200. Kilka analizowanych badań wskazuje na fakt, że krążące miR-20a, miR-199a, miR-143-3p można rozpatrywać jako biomarkery endometriozy

ze swoistością zbliżoną do 100%. Wydaje się także, że EMT jest sygnałem zmian epigenetycznych poprzedzających endometriozę.

Prace oryginalne opublikowane w 2023 roku i oparte na wspomnianej powyżej grupie doprowadziły do istotnych własnych ustaleń.

W publikacji pt. "Expression of TGF-beta1, SMAD3, ILK and miRNA-21 in the Ectopic and Eutopic Endometrium of Women with Endometriosis" autorzy przedstawili wyniki ekspresji markerów EMT. Chore na endometriozę wykazały niższą ekspresję w zmianach ektopowych i wyższą w zmianach eutopowych w porównaniu z endometrium pobranym od zdrowych kobiet. Dodatkowym elementem było znalezienie silnej dodatniej korelacji pomiędzy ekspresją ILK a nasileniem bólu w endometriozie. Kolejnym odkryciem autorów było powiązanie nadmiernej supresji TNF beta1 przez miR-21 z kaskadą przemian w implantach endometrialnych od przekrwienia i zapalenia do proliferacji komórkowej, przebudowy i zwłóknienia tkanki.

W drugiej pracy oryginalnej badano poziom ekspresji miR-542-3p w związku z markerami EMT - BMP7, SMAD4 i CDH1. Wykazano obniżoną ekspresję w zmianach ektopowych i nadekspresję w eutopowym endometrium kobiet chorych na endometriozę. Taka konfiguracja może wyjaśniać zaburzenia płodności w endometriozie, jakkolwiek użycie technik zapłodnienia *in vitro* nie potwierdziło bezpośrednio takiego wniosku.

Opierając się na wszystkich trzech publikacjach Doktorantka sformułowała trzy wnioski:

Pierwszy dotyczący utraty fenotypu endometrium pod wpływem zmienionej ekspresji genów TGF- beta1, SMAD3, SMAD5, ILK, BMP7 CDH1 i dwóch badanych miR;

Drugi dotyczący roli miR-21-5p i mir-542-3p jako potencjalnego regulatora osi odpowiednio TGF beta1-SMAD3-ILK i BMP7-SMAD4-CDH1 w EMT w endometriozie;

Trzeci potwierdzający znaczenie oceny profilu ekspresji miRNA w poszukiwaniu patogenezы endometriozы.

Wnioski bezpośrednio wynikają z badań i są uzupełnieniem do konkluzji poszczególnych prac.

Do części związanej bezpośrednio z cyklem prac Doktorantka dodała pełne bardzo obszerne piśmiennictwo, wykaz użytych skrótów oraz 43 stronicowy wstęp traktujący o epidemiologicznych, klinicznych i molekularnych aspektach endometriozы.

Wykaz skrótów użytych przez Autora a umieszczony na początku pozwala uniknąć nieporozumień w rozumieniu treści, spełniając rolę zaawansowanego słownika – skróty są w większości anglojęzyczne a ich rozwinięcie oparte o nomenklaturę polską, należy podkreślić, precyzję i poprawną polszczyznę tłumaczenia.

Spis piśmiennictwa zawiera 259 dobrze dobranych pozycji.

Obszerne wstęp jest dobrze, potocznie napisany i stanowi kompendium wiedzy na temat endometriozы. Szczególnie interesujące są fragmenty dotyczące zagadnień molekularnych. Wydaje się, że w tym obszarze Doktorantka czuje się wyraźnie lepiej niż w zagadnieniach klinicznych. Opisując typowe lokalizacje endometriozы na stronie 15 tworzy własne mianownictwo anatomiczne jak np. „przedni ślepy zaułek i tylny ślepy zaułek” lub na stronie 18 „gęstą niedrożność jajowodów” czy „stwierdzenie całkowitego ślepego przerostu...”. Te stwierdzenia momentami uniemożliwiają rozumienie tekstu. Sądzę, że być

może jest to wynikiem działania edytora tekstu lub mechanicznego tłumaczenia niemniej jednak wymaga poprawy. Budzi też we mnie wątpliwości potrzeba przytaczania historycznych teorii powstawania endometriozy, które zwłaszcza w świetle badań Doktorantki, stanowią raczej część historii medycyny niż element aktualnej wiedzy.

Niemniej pragnę podkreślić, że badania przeprowadzone przez zespół do którego należy Doktorantka całkowicie zacierają wrażenie wynikające z powyższych niedoskonałości.

Podsumowując – przedstawiona mi do oceny rozprawa doktorska lek. **Anny Zubrzyckiej „Ocena ekspresji wybranych genów oraz mikro-RNA regulujących przejście epitelialno-mezenchymalne (*ang. Epithelial-Mesenchymal Transition, EMT*) jako potencjalnych biomarkerów diagnostycznych w endometriozie”** spełnia warunki określone w art. 187 Ustawy *Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce* z dnia 20 lipca 2018r. (*Dz. U. z dnia 2020r. poz. 85 z późn. zm.*), a wskazane nieliczne uwagi nie mają wpływu na ogólną bardzo wysoką ocenę przedłożonej pracy, zwracam się zatem do Wysokiej Rady Nauk Medycznych, Uniwersytetu Medycznego w Łodzi z wnioskiem o dopuszczenie lek. Anny Zubrzyckiej do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Uznając nowatorstwo warsztatu badawczego, zaawansowany model badania i wartość bibliometryczną cyklu prac spełniającą typową wartość referencyjną przewidzianą dla cyklu habilitacyjnego oraz bardzo dużą wagę tak naukową jak aplikacyjną otrzymanych wyników wnoszę o wyróżnienie pracy.



