



Uniwersytecki Szpital Kliniczny
im. Fryderyka Chopina w Rzeszowie

**Uniwersytecki Szpital Kliniczny
im. Fryderyka Chopina w Rzeszowie
35-055 Rzeszów, ul. Szopena 2
Klinika Ginekologii, Ginekologii Onkologicznej i Położnictwa
Kierownik Kliniki: Prof. dr hab. n. med. Tomasz Kluz**

Recenzja rozprawy na stopień doktora nauk medycznych lek. Magdalena Dudy – Wiewiórki pod tytułem „ Analiza poziomu metabolitów witaminy D oraz poziomu ekspresji genów cytochromu P450 i długich niekodujących RNA, w rozrostach endometrium u kobiet po menopauzie”.

Z wielkim zainteresowaniem zapoznałem się z pracą doktorską lek. Magdaleny Dudy – Wiewiórki pt: Analiza poziomu metabolitów witaminy D oraz poziomu ekspresji genów cytochromu P450 i długich niekodujących RNA, w rozrostach endometrium u kobiet po menopauzie. Praca dotyka bardzo ważnego, ciekawego oraz szeroko dyskutowanego w ostatnich latach zagadnienia, jakim jest wpływ poziomu metabolitów witaminy D oraz poziomu ekspresji genów cytochromu P450 i długich niekodujących RNA, na rozrosty endometrium u kobiet po menopauzie.

Praca zawiera 55 stron wydruku komputerowego, które uzupełnia 5 stron streszczeń oraz 13 stron spisu piśmiennictwa (131 pozycji). Praca składa się z 12 rozdziałów. W 20-stronicowej części ogólnej autorka w pierwszej części omawia patogenezę, czynniki ryzyka, diagnostykę oraz leczenie rozrostów endometrium. W drugiej przedstawia związek witaminy D (VD) z występowaniem rozrostów endometrium (EH).

Autorka sformułowała oraz przedstawiła cele główne:

1. Określenie związku poziomu VD oraz jej metabolitów w surowicy pacjentek po menopauzie z nieprawidłowym rozrostem błony śluzowej macicy z atypią oraz bez atypii.

2. Określenie różnic w poziomie ekspresji poszczególnych długich niekodujących RNA (lncRNA) w badanej grupie.
3. Określenie poziomu ekspresji miRNA w poszczególnych grupach oraz miRNA powiązanych z cytochromem P450.

Wyodrębniła również cele szczegółowe:

1. Wskazanie metabolitu witaminy D, który oprócz 25-OH D3 mógłby być silnie związany z nieprawidłowym rozrostem błony śluzowej macicy z atypią.
2. Określenie częstości występowania raka endometrium (EC) w grupie pacjentek z atypią oraz określenie ewentualnego związku między EC a poziomem metabolitów VD na tle pozostałych czynników ryzyka.
3. Określenie długości telomerów w poszczególnych grupach pacjentek z nieprawidłowym rozrostem błony śluzowej macicy z atypią oraz bez atypii.
4. Określenie potencjalnego związku pomiędzy poziomem VD, markerami uszkodzenia DNA, a obecnością rozrostu endometrium z atypią oraz EC.

W grupie badanej w której dokonano analizy poziomu metabolitów witaminy D znalazły się 44 pacjentki, (30 pacjentek z histopatologicznie potwierdzonym rozrostem gruczołowym z atypią, 14 pacjentek z rozrostem gruczołowym bez atypii). W grupie pacjentek, u których dokonano analizy niekodujących RNA (ncRNA), długości telomerów oraz analizy uszkodzenia DNA znalazło się 51 pacjentek (30 pacjentek z histopatologicznie potwierdzonym rozrostem gruczołowym z atypią, 23 pacjentki z rozrostem gruczołowym bez atypii). Grupę kontrolną stanowiły 54 zdrowe kobiety w wieku 48-68 lat, nie leczone również z powodu mięśniaków, guzów przydatków, zrekrutowanych jako ochotniczki.

Analizie w badanych grupach poddano:

- podstawowe dane kliniczne
- poziom metabolitów VD w tym: 25-OH vit D3, 25-OH vit D2, 1,25-diOH vit D3
- analizę długości telomerów
- poziom markerów uszkodzenia DNA
- poziom ekspresji lncRNA oraz miRNA w grupach badanych
- wyniki badania histopatologicznego

Na podstawie własnego doświadczenia z przeprowadzonych badań autorka wysunęła 7 wniosków, które w pełni korespondują z celami pracy:

1. W badanej grupie nie stwierdzono jednoznacznego związku pomiędzy poziomem witaminy D oraz obecności rozrostu endometrium z atypią, w badanej grupie stwierdzono jednak wyjściowo znaczny niedobór VD.
2. lncRNA takie jak KCNMB2-AS1, MIR205HG, RP11-357H14.17 wykazały znacznie wyższą ekspresję w grupie pacjentek z atypią, co może mieć związek z ich potencjalną rolą jako biomarkerów diagnostycznych dla rozrostu endometrium z atypią, a także może wskazywać na ich prognostyczną wartość transformacji nowotworowej.
3. W grupie pacjentek z atypią wykazano nadekspresję w zakresie hsa-miR-26a-5p oraz miR-27b, co może mieć związek z hamowaniem enzymów genów cytochromu P450 oraz mieć związek z niższym poziomem aktywnych metabolitów VD.
4. Nie stwierdzono istotnych różnic w poziomie dwóch innych badanych metabolitów VD (25-OH vit D2 oraz 1,25-diOH vit D3), u pacjentek z obecnością EH z atypią oraz bez atypii.
5. W badanej grupie u pacjentek z atypią stwierdzono wyższą, bo 56,7%, niż opisywana w dotychczasowych badaniach częstość występowania EC w materiale pooperacyjnym. Pacjentki z EC cechowały się większą wagą, wyższą częstością występowania cukrzycy oraz wyższym wiekiem, a istotna statystycznie różnica została stwierdzona w przypadku wieku. W grupie pacjentek z EC również nie potwierdzono jednoznacznego związku metabolitów VD z obecnością EC
6. Analiza długości telomerów, pomimo braku stwierdzenia istotności statystycznej wykazała tendencję do skracania się w grupie pacjentek z EH z atypią co może wskazywać na wyższe ryzyko transformacji nowotworowej w tej grupie.
7. Pomimo braku stwierdzenia jednoznacznego związku pomiędzy poziomem metabolitów VD oraz obecności rozrostu endometrium z atypią, wyniki uszkodzenia DNA, analiza długości telomerów oraz częstość EC w badanej grupie, mogą wskazywać, iż współistnienie niedoboru VD oraz pozostałych czynników ryzyka może znacznie sprzyjać i promować procesy transformacji nowotworowej.

Z obowiązku recenzenta pragnę się podzielić uwagami, które mogą być przydatne w dalszych publikacjach prezentowanego materiału:

1. Pomimo niewielkiej liczebności próby, różnice w stężeniach 25-OH vit D3 były istotne statystycznie.
2. Analiza przeprowadzona w preparatach operacyjnych również pokazała różnice stężeń 25-OH vit D3, przy czym niższe stężenie stwierdzono w grupie bez atypii – co mogło mieć na to wpływ? Co ważne, w obydwu porównanych grupach mediana stężeń 25-OH vit D3 mieściła się w zakresie ciężkiego niedoboru, co odzwierciedla sytuację w populacji polskiej. W tym kontekście dobór dodatkowej grupy kontrolnej, wywodzącej się z populacji bez niedoboru 25-OH vit D3, mógłby dać ciekawe wyniki i może być załączkiem dalszych badań nad patogenezą nowotworowych chorób endometrium.
3. Ciekawym znaleziskiem jest brak różnic długości telomerów pomiędzy poszczególnymi grupami pacjentek (P dla tego porównania wyniosło 0.101), choć stężenie 8-OHdG wskazujące na uszkodzenie DNA było wyższe w grupie atypii. Być może powtórzenie porównania długości telomerów w liczniejszej grupie badanych dałoby wynik istotny statystycznie.
4. Analiza ekspresji RP11-357H14.17 wykazała najwyższą różnicę ekspresji spośród analizowanych długich niekodujących łańcuchów RNA (lncRNA), na poziomie 53 razy wyższej ekspresji w grupie atypii niż w grupie bez atypii. Jest to ciekawy wynik, mogący znaleźć praktyczne zastosowanie kliniczne. Czy istnieją doniesienia pomiędzy wielkością ekspresji RP11-357H14.17 a stopniem uszkodzenia DNA w chorobach nowotworowych? Być może tego typu analiza byłaby ciekawym dalszym kierunkiem badań.

Podsumowując, przedstawiona do mojej oceny praca jest bardzo interesująca, oparta na ciekawym materiale dotyczącym istotnego problemu klinicznego. Gratuluję Doktorantowi i Promotorowi opracowania niezwykle ciekawego materiału klinicznego. Do przedstawionej mi rozprawy nie mam istotnych uwag poza wskazanymi powyżej. Doktorantka wykazała się obszerną wiedzą, dobrze zaplanowała i przeprowadziła swoje badanie. Wnoszę zatem do Wysokiej Rady Dyscypliny Nauki Medyczne UJ o dopuszczenia lek. Magdalenę Dudę - Wiewiórkę do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Rzeszów, 4.08.2024.

Prof. dr hab. n. med. Tomasz Kluz
specjalista ginekologii i położnictwa
specjalista ginekologii onkologicznej
7731861 tel. 609 546 450