



Prof. hab. n. med. Anita Chudecka-Głaz
Kierownik Kliniki Ginekologii Operacyjnej i Onkologii Ginekologicznej
Dorosłych i Dziewcząt USK 2 PUM
Ul. Powstańców Wlkp. 72
70-111 Szczecin

Szczecin, dnia 30.12.2026

Ocena rozprawy doktorskiej lek. med. Anny Bogaczyk pt. „Znaczenie kliniczne zmian ekspresji wybranych mikroRNA w diagnostyce i leczeniu raka endometrium”.

Rak endometrium jest szóstym najczęściej diagnozowanym nowotworem u kobiet na świecie i drugim najczęściej występującym nowotworem żeńskich narządów płciowych. W Polsce odnotowuje się około 6000 zachorowań rocznie. Częstość zachorowania na raka endometrium ma tendencję wzrostową, najwięcej zachorowań odnotowuje się w krajach Ameryki Północnej i Europy, gdzie jest to najczęstszy nowotwór żeńskich narządów płciowych. Wysoki współczynnik zapadalności można przypisać dużej częstości występowania czynników ryzyka raka endometrium związanych ze stylem życia, takich jak wysoki standard życia, starzenie się populacji, otyłość i brak aktywności fizycznej, które występują w około 50% przypadków zachorowań. O ile jednak wzrost zapadalności na raka endometrium był od wielu lat przewidywany, pewnym zaskoczeniem jest obserwowany na świecie i w Polsce wzrost umieralności z powodu tego złośliwego nowotworu narządu płciowego kobiety.

Od 2013 roku znacząco zmieniło się podejście do diagnostyki, a z czasem i do terapii raka endometrium w związku z opublikowanymi wynikami TCGA. The Cancer Genome Atlas (TCGA) wprowadził nową klasyfikację molekularną raka endometrium, która jest niewątpliwym postępem w diagnostyce i leczeniu tego nowotworu. Wskazuje ona na zmianę paradygmatu z klasyfikacji morfologicznej na molekularną i pozwala na wiarygodne oszacowanie rokowania i ocenę odpowiedzi na leczenie.

W kancerogenezie raka endometrium odgrywa również rolę mikroRNA. Do mechanizmów regulujących ekspresję genów zalicza się zarówno klasyczne mechanizmy epigenetyczne, jak i niekodujące RNA (ncRNA, noncoding RNA). Pomimo że ncRNA nie są klasycznymi czynnikami

epigenetycznymi, to odgrywają istotną rolę w regulacji ekspresji genów na poziomie posttranskrypcyjnym. MikroRNA stanowią szczególnie interesującą klasę niekodujących RNA ze względu na rolę, jaką pełnią w regulacji ekspresji genów. Zostały odkryte w 1993 r., są to jednoniciowe, małe cząsteczki RNA o długości około 19–25 nukleotydów. Pierwszym opisanym miRNA była cząsteczka kodowana przez gen *lin-4*, która reguluje ekspresję białka LIN14 u *Caenorhabditis elegans*. Obecnie mikroRNA są atrakcyjnymi kandydatami na cele terapeutyczne w leczeniu nowotworów złośliwych. Dlatego identyfikacja ich genów docelowych jest kluczowa w badaniach nad mechanizmami kancerogenezy. MikroRNA są również wykorzystywane jako biomarkery do oceny odpowiedzi na leczenie. W badaniach wykazano, że miRNA indukują chemiooporność w różnych typach nowotworach, a zjawisko to opisano zostało również w raku endometrium.

Kierunek badań z wykorzystaniem mikro RNA jako czynników prognostycznych i predykcyjnych wydaje się bardzo interesujący, tym bardziej ciekawe stają się cele pracy postawione przez Doktorantkę:

1. Wykazanie zmiany ekspresji w tkance raka endometrium dla miR-205-5p, miR-222-3p i miR-21-5p w porównaniu z tkanką endometrium w grupie kontrolnej.
2. Wykazanie zależności między ekspresją badanych miRNA a wskaźnikiem masy ciała oraz chorobami współistniejącymi u pacjentek z rakiem endometrium.
3. Wykazanie związku ekspresji miRNA w różnych stopniach zaawansowania i zróżnicowania histopatologicznego nowotworu.
4. Potwierdzenie zmian ekspresji w surowicy u pacjentek z rakiem endometrium.
5. Ocena przydatności mikroRNA oznaczanego w surowicy jako mniej inwazyjnego i potencjalnie użytecznego biomarkera w porównaniu z miRNA pochodzenia tkankowego.
6. Zbadanie stabilności ekspresji SNORD48 i U6 w tkankach raka endometrium.

Badanie zostało przeprowadzone w dwóch etapach i objęło pacjentki hospitalizowane w Klinice Ginekologii, Ginekologii Onkologicznej i Położnictwa Szpitala Uniwersyteckiego im. Fryderyka Chopina w Rzeszowie. Pacjentki zgłaszały się do szpitala w okresie od 03/2021 do

11/2022 w celu rozpoczęcia leczenia onkologicznego. W pierwszym etapie analizowano ekspresję wybranych mikroRNA w materiale tkankowym pobranym od 111 pacjentek z histopatologicznie potwierdzonym rakiem endometrium. Drugi etap badania objął 18 pacjentek z rakiem endometrium, które brały udział również w pierwszym etapie. U tych samych kobiet oznaczono poziom ekspresji mikroRNA w surowicy i porównywano z poziomem ekspresji w materiale tkankowym, co umożliwiło ocenę przydatności oznaczeń z surowicy jako potencjalnie mniej inwazyjnej metody diagnostycznej. Grupę kontrolną w obu etapach stanowiło 19 zdrowych kobiet operowanych z powodu wypadania narządów miednicy mniejszej lub mięśniaków macicy, bez rozpoznania nowotworu. Żadna z pacjentek nie otrzymywała terapii hormonalnej, radioterapii ani chemioterapii przed pobraniem próbki.

Wyniki zostały opublikowane w dwóch pracach oryginalnych.

Pierwsza praca oryginalna: *„Absolute Quantification of Selected microRNAs Expression in Endometrial Cancer by Digital PCR”*

Celem tego badania była ocena zmian ekspresji trzech miRNA (miR-21-5p, miR-205-5p i miR-222-3p) w tkankach raka endometrium w porównaniu ze zdrową tkanką endometrium oraz związek stopnia ekspresji z wybranymi cechami klinicznymi. Dodatkowo oceniono stabilność ekspresji SNORD48 i U6, które początkowo planowano wykorzystać jako referencyjne miRNA. Tkanę błony śluzowej trzonu macicy uzyskano od 111 pacjentek z rakiem endometrium podczas przeprowadzanej histerektomii oraz od 19 pacjentek poddawanych operacji z powodu mięśniaków macicy lub wypadania narządu rodowego, stanowiących grupę kontrolną bez zmian nowotworowych. Badanie oparto na obliczeniach wykonanych metodą cyfrowej PCR (Qiagen, Hilden, Niemcy).

W tkance raka endometrium stwierdzono podwyższoną ekspresję miR-205-5p, podczas gdy miR-222-3p i SNORD48 wykazywały niższe poziomy ekspresji w porównaniu z grupą kontrolną. Nadekspresja miR-205-5p została potwierdzona analizą regresji logistycznej jedno i wieloczynnikowej. Ekspresja miR-205-5p była również oceniana w różnych stopniach zróżnicowania nowotworu, podczas której stwierdzono nadekspresję w przypadku rozpoznania EIN oraz w rakach niskozróżnicowanych (G3). Ekspresja miR-222-3p w tkankach nowotworowych okazała się niska i nie wykazywała istotnych zmian w zależności od stopnia

zróżnicowania nowotworu, jednak z tendencją do obniżania wraz ze wzrostem złośliwości nowotworu wyrażanej stopniem zróżnicowania. W analizowanej grupie pacjentek nie stwierdzono różnic w poziomach ekspresji miR-21-5p w porównaniu do grupy kontrolnej, ale statystycznie istotnie ekspresja była wyższa w grupie pacjentek z nowotworem niskozróżnicowanym (G3). W publikacji Doktorantka oceniła również związek pomiędzy ekspresją miR-205-5p, miR-222-3p oraz miR-21-5p a występowaniem chorób współistniejących. Nie stwierdzono różnic w ekspresji u pacjentek z nadciśnieniem, cukrzycą lub niedoczynnością tarczycy, natomiast w grupie kobiet powyżej 50 roku życia miR-205-3p uległ istotnej nadekspresji a w grupie kobiet z wysokim BMI zaobserwowano tendencję do obniżania się ekspresji miR-21-5p.

Doktorantka formułując wnioski ze swoich badań w cytowanej publikacji sugeruje, że podwyższenie ekspresji miR-205-5p oraz obniżenie ekspresji miR-222-3p i SNORD48 mogą wpływać na rozwój raka endometrium. Ponadto, zmiany ekspresji miR-205-5p, U6 i SNORD48 mogą być związane z progresją raka endometrium. Wyniki wskazują również, że SNORD48 i U6, powszechnie stosowane jako referencje wewnętrzne, mogą wpływać na rozwój i progresję raka endometrium, dlatego nie powinny być stosowane jako referencje. Należy jednak zaznaczyć, że potrzebne są dalsze badania, aby zrozumieć ich rolę w raku endometrium. Wyniki opublikowano w 2024 roku, w *International Journal of Molecular Science*, IF 4,9 i punktacji MEiN: 140 pkt.

Druga praca oryginalna: *"MiR-205-5p and MiR-222-3p as Potential Biomarkers of Endometrial Cancer"*

W kolejnym badaniu Doktorantka skupiła się na poszukiwaniu nowych markerów służących do wykrywania raka endometrium. Do badania włączono 18 pacjentek z rakiem endometrium i 19 pacjentek poddawanych operacji z powodu wypadania narządów miednicy lub mięśniaków macicy stanowiących grupę kontrolną. Od wszystkich pacjentek pobrano tkankę endometrium i surowicę krwi. Ważnym elementem tej publikacji jest fakt, że analizowano wolnokrążące miRNA a nie izolowane z egzosomów, co pozwala na ograniczenie inwazyjności badań.

Zmierzono absolutną ekspresję miR-21-5p, miR-205-5p i miR-222-3p w tkance raka endometrium i porównano z badaniami absolutnej ekspresji miRNA w grupie kontrolnej. Takie

same porównania przeprowadzono w surowicy krwi. Stwierdzono istotnie wyższą ekspresję miR-205-3p w tkance guza nowotworowego, która pozostawała istotna po korekcie Benjaminiego-Hochberga oraz w analizie jednoczynnikowej, a nie zaobserwowano tej zależności w surowicy krwi, co może wynikać z różnicy w stabilności lub odmiennych mechanizmów regulacyjnych w tkance i surowicy krwi. Różnica w ekspresji miR-205-3p oceniania w zależności od stopnia klinicznego zaawansowania nie została potwierdzona po zastosowaniu korekty statystycznej Benjaminiego-Hochberga. W przypadku miR-222-5p odnotowano istotną statystycznie niską ekspresję w guzie nowotworowym oraz w surowicy krwi pacjentek z rakiem endometrium co zostało potwierdzone analizą Benjaminiego-Hochberga. Może to wskazywać na supresyjną rolę w komórkach raka endometrium. Ekspresja miR21-5p nie różniła się w tkance guza nowotworowego ani w stężeniach surowiczych.

Wnioski z przedstawionej publikacji zostały przez Doktorantkę sformułowane w sposób następujący: „Analizy wykazały zwiększoną ekspresję miR-205-5p w tkance raka endometrium oraz zmniejszoną ekspresję miR-222-3p zarówno w próbkach tkanki, jak i surowicy. Wyniki te sugerują, że miR-205-5p i miR-222-3p mogą służyć jako potencjalne biomarkery raka endometrium. Konieczne są dalsze badania na większej grupie, aby wyjaśnić przydatność diagnostyczną miR-205 i miR-222”.

Wyniki opublikowano w 2025 roku, w *International Journal of Molecular Science*, IF 4,9 i punktacji MEiN: 140 pkt.

Dodatkowo, trzecią publikacją będącą cyklem rozprawy doktorskiej jest praca poglądowa pt. „*The role of miRNAs in the Development, Proliferation, and Progression of Endometrial Cancer*”.

Celem tego artykułu było przeprowadzenie szczegółowej analizy roli miRNA w kancerogenezie raka endometrium. Artykuł obejmuje szeroki zakres zagadnień, od roli miRNA w procesie nowotworzenia, poprzez związek ekspresji z czynnikami ryzyka rozwoju nowotworu a kończąc na szczegółowej analizie wybranych białek. Interesujący jest zwłaszcza rozdział dotyczący związku miRNA z czynnikami ryzyka. Doktorantka wskazuje na nadmierną ekspresję wielu miRNA w zespole PCO oraz ocenia wpływ starzenia na zmiany ekspresji miRNA, opisując „miRNA długowieczności:”, których ekspresja u osób długożyjących jest obniżona (let-7, miR-17, miR-34).

Przedstawiona mi do oceny dysertacja lek. Anny Bogaczyk ma charakter nowoczesny, dotyczy ważnego problemu medycznego, rozwiązuje prawidłowo problem naukowy i oceniam ją bardzo wysoko. Składa się z trzech publikacji zamieszczonych w recenzowanych czasopismach o wysokich współczynnikach oddziaływania *Impact Factor*, łącznie IF wynosi 14,7, a punkty MEiN 420 pkt. To stawia dysertację na bardzo wysokim poziomie naukowym. Pomimo tego, że oparta jest na niewielkich populacjach, dostarcza bardzo istotnych informacji i potwierdza istotną rolę miRNA magnetycznego w diagnostyce i etiopatogenezie raka endometrium. Dobór pacjentek oraz zastosowane w publikacjach metody badawcze i narzędzia statystyczne są odpowiednio dobrane i nie budzą zastrzeżeń. Rozprawa jest interesująca oraz przedstawia klinicznie istotne wyniki oraz wnioski z przeprowadzonych badań. Przeprowadzona dyskusja w poszczególnych publikacjach, jest prawidłowa, ciekawa i w wyczerpujący sposób konfrontuje otrzymane wyniki z danymi literaturowymi. Dysertacja stanowi rozwiązanie problemu klinicznego, wyraźnie odpowiada na zadane pytania i cele badawcze.

Ważne podkreślenia jest, że Doktorantka zauważa słabsze elementy swojej rozprawy związane między innymi z liczebnością badanej populacji i wyraźnie podkreśla potrzebę powtórzenia wyników na większych grupach badanych oraz przeprowadzenia bardziej kompleksowych analiz nad molekularnym działaniem miRNA i genów referencyjnych w raku endometrium. Świadczy to o dojrzałości naukowej Doktorantki i umiejętności samodzielnego prowadzenia badań naukowych.

Podsumowując uważam, że przedstawiona mi do oceny dysertacja lek. Anny Bogaczyk pt. "Znaczenie kliniczne zmian ekspresji wybranych mikroRNA w diagnostyce i leczeniu raka endometrium" spełnia warunki merytoryczne i formalne stawiane pracom na stopień doktora nauk medycznych określone w artykułe 187 ustawy z dnia 20 lipca 2018 Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. 2018 poz.1668).

Mam tym samym zaszczyt przedstawić wniosek Wysockiej Radzie Dyscypliny Nauk Medycznych Collegium Medicum Uniwersytetu Rzeszowskiego o dopuszczenie lekarz Anny Bogaczyk do dalszych etapów przewodu doktorskiego. Ze względu na wysoką wartość naukową oraz publikacje w recenzowanych oraz wysoko klasyfikowanych czasopismach o

zasiegu międzynarodowym wnoszę do Wysokiej Rady o wyróżnienie rozprawy *summa cum laude*.

Prof. dr hab. n. med.

Anita Chudecka-Głaz