

Dr n. med. Tomasz Szaflik

AUTOREFERAT

**w postępowaniu o nadanie stopnia naukowego doktora habilitowanego
nauk medycznych**

Tytuł osiągnięcia naukowego:

**Badania nad podłożem genetycznym oraz poszukiwaniem
markerów molekularnych endometriozy**

Klinika Ginekologii, Ginekologii Onkologicznej i Leczenia Endometriozy

Instytutu Centrum Zdrowia Matki Polki w Łodzi

Kierownik Kliniki: prof. dr hab. n. med. Krzysztof Szyłło

Łódź, 2023

1. Imię i nazwisko: Tomasz Szaflik

2. Posiadane dyplomy, stopnie naukowe lub artystyczne – z podaniem podmiotu nadającego stopień, roku ich uzyskania oraz tytułu rozprawy doktorskiej.

2005 - Świadectwo maturalne - XXVI Liceum Ogólnokształcące
im. Krzysztofa Kamila Baczyńskiego w Łodzi

2011 - Dyplom lekarza - Dyplom ukończenia studiów na Wydziale
Lekarskim Uniwersytetu Medycznego w Łodzi

2019 - Dyplom doktora nauk medycznych

Tytuł rozprawy doktorskiej:

„Rola ekspresji genu ESR2 oraz CYP19A1 u kobiet z endometriozą”

Podmiot nadający stopień:

Rada Naukowa Instytutu Centrum Zdrowia Matki Polki w Łodzi

Doktorat obroniony z wyróżnieniem.

Promotor: prof. dr hab. n. med. Krzysztof Szyłło

Recenzenci: prof. dr hab. n. med. Mariusz Zimmer
prof. dr hab. n. med. Włodzimierz Sawicki

2020 - Dyplom specjalisty Położnictwa i Ginekologii

3. Informacja o dotychczasowym zatrudnieniu w jednostkach naukowych lub artystycznych.

2011 - 2012 - Staż podyplomowy w Wojewódzkim Szpitalu Specjalistycznym im. M. Pirogowa, Łódź

2013 – 2020 - Młodszy asystent w Klinice Ginekologii Operacyjnej i Ginekologii Onkologicznej, Instytut Centrum Zdrowia Matki Polki, Łódź

2020 - 2021 - Starszy asystent w Klinice Ginekologii Operacyjnej i Ginekologii Onkologicznej / Klinice Ginekologii, Ginekologii Onkologicznej i Leczenia Endometriozy, Instytut Centrum Zdrowia Matki Polki, Łódź

2013 - 2023 – Pracownik dydaktyczny w Klinice Ginekologii Operacyjnej, Endoskopowej i Ginekologii Onkologicznej, Uniwersytet Medyczny, Łódź. Zajęcia praktyczne oraz teoretyczne ze studentami anglojęzycznymi V roku, Wydział Lekarski Anglojęzyczny

2022 – obecnie - Adiunkt w Klinice Ginekologii, Ginekologii Onkologicznej i Leczenia Endometriozy, Instytut Centrum Zdrowia Matki Polki, Łódź

2021 – obecnie - Koordynator ds. szkoleń wewnętrznych (w ramach kształcenia specjalizacyjnego lekarzy) w Instytucie Centrum Zdrowia Matki Polki, Łódź

4. Omówienie osiągnięć, o których mowa w art. 219 ust. 1 pkt. 2 ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 2021 r. poz. 478 z późn. zm.). Omówienie to winno dotyczyć merytorycznego ujęcia przedmiotowych osiągnięć, jak i w sposób precyzyjny określać indywidualny wkład w ich powstanie, w przypadku, gdy dane osiągnięcie jest dziełem współautorskim, z uwzględnieniem możliwości wskazywania dorobku z okresu całej kariery zawodowej.

a) tytuł osiągnięcia naukowego:

Badania nad podłożem genetycznym oraz poszukiwaniem markerów molekularnych endometriozy

b) publikacje wchodzące w skład osiągnięcia (autorzy, tytuł publikacji, rok wydania, nazwa wydawnictwa)

Praca 1.

Szaflik T, Smolarz B, Romanowicz H, Bryś M, Forma E, Szyłło K. Polymorphisms in the 3'UTR Region of ESR2 and CYP19A1 Genes in Women With Endometriosis. Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol. 2020 Jul;250:241-245. doi: 10.1016/j.ejogrb.2020.05.023

IF – 2,435
KBN/MNiSW – 70

Indywidualny wkład obejmował: ustalenie koncepcji badań, opracowanie metodologii, zebranie materiału do badań, kwalifikacja pacjentek, interpretacja wyników, opracowanie i redagowanie manuskryptu. Udział procentowy – 70%

Praca 2.

Szaflik T, Romanowicz H, Szyłło K, Kołaciński R, Michalska MM, Samulak D, Smolarz B. Analysis of Long Non-Coding RNA (lncRNA) UCA1, MALAT1, TC0101441, and H19 Expression in Endometriosis. Int J Mol Sci. **2022** Sep 30;23(19):11583. doi: 10.3390/ijms231911583

IF – 6,208
KBN/MNiSW – 140

Indywidualny wkład obejmował: ustalenie koncepcji badań, opracowanie metodologii, zebranie materiału do badań, kwalifikacja pacjentek, interpretacja wyników, opracowanie i redagowanie manuskryptu. Udział procentowy – 70%

Praca 3.

Szaflik T, Romanowicz H, Szyłło K, Smolarz B. Long Non-Coding RNA SNHG4 Expression in Women with Endometriosis: A Pilot Study. Genes (Basel). **2023** Jan 5;14(1):152. doi: 10.3390/genes14010152

IF – 4,141
KBN/MNiSW – 100

Indywidualny wkład obejmował: ustalenie koncepcji badań, opracowanie metodologii, zebranie materiału do badań, kwalifikacja pacjentek, interpretacja wyników, opracowanie i redagowanie manuskryptu. Udział procentowy – 70%

Praca 4.

Szaflik T, Romanowicz H, Szyłło K, Smolarz B. MicroRNAs (miRNAs) and long non-coding RNAs (lncRNAs) in endometriosis (review of literature). Ginekol Pol **2023**, DOI: 10.5603/gpl.95968

IF – 1,3

KBN/MNiSW – 70

Mój indywidualny wkład w powstanie tej pracy polegał na planowaniu konstrukcji pracy, przeglądzie literatury na ten temat, napisaniu pracy. Udział procentowy - 75%

Praca 5.

SzaflikT, Romanowicz H, Trzmielak D, Makowska M, Smolarz B. Analysis of lncRNA Homebox Transcript antisense RNA (HOTAIR) expression in Polish Women with Endometriosis. Archives of Medical Science **2023**, DOI: <https://doi.org/10.5114/aoms/171350>

IF – 3,8

KBN/MNiSW – 100

Indywidualny wkład obejmował: ustalenie koncepcji badań, opracowanie metodologii, zebranie materiału do badań, kwalifikacja pacjentek, interpretacja wyników, opracowanie i redagowanie manuskryptu. Udział procentowy – 70%

Sumaryczna wartość współczynnika Impact Factor = **16,635**

Sumaryczna wartość punktacji MNiSW = **480**

OSIĄGNIĘCIE NAUKOWE W POSTĘPOWANIU HABILITACYJNYM

Omówienie osiągnięcia naukowego.

Endometrioza stanowi bardzo istotny problem medyczny, społeczny i ekonomiczny. Mechanizm powstawania endometriozy pozostaje dalej niewyjaśniony i nadal nie odkryto dobrego markera tej choroby. Moje osiągnięcie naukowe stanowi cykl 5 publikacji naukowych dotyczących badań nad podłożem genetycznym oraz poszukiwaniem markerów molekularnych endometriozy. Prace te zostały opublikowane w czasopismach polskich i zagranicznych.

Wstęp

Endometrioza jest wyniszczającą chorobą ginekologiczną, definiowaną jako obecność komórek endometrium w nieprawidłowej lub ektopowej lokalizacji poza jamą macicy. Nieprawidłowa tkanka reaguje na stymulację hormonalną, podlega cyklicznemu wzrostowi i złuszczeniu się podobnie jak odpowiednio zlokalizowana tkanka endometrium w macicy. Na diagnozę kobiety czekają średnio 8–10 lat. Podstawową metodą rozpoznawania endometriozy jest laparoscopia (zwana złotym standardem), polegająca na wycięciu zmian endometrialnych. W leczeniu objawowej endometriozy stosuje się hormonoterapię i leki przeciwbólowe, jednak endometrioza często powraca. Dlatego ważne jest kompleksowe i zindywidualizowane podejście do pacjentki oraz znalezienie nieinwazyjnego markera diagnostycznego choroby.

Endometrioza to łagodne, estrogenozależne, ginekologiczne schorzenie, jednak ze względu na towarzyszące dolegliwości i przewlekły charakter stanowi bardzo istotny problem medyczny, społeczny i ekonomiczny. Mechanizm powstawania endometriozy pozostaje dalej niewyjaśniony i nadal nie odkryto dobrego markera tej choroby. Patofizjologia tej choroby nie jest dokładnie poznana. Wśród czynników etiologicznych wymienia się czynniki wrodzone, środowiskowe, epigenetyczne, autoimmunologiczne i alergiczne. Za główny czynnik etiopatogenetyczny endometriozy nadal uważana jest teoria wstecznej menstruacji przedstawiona przez Sampsona. Jednak u około 90% kobiet niedotkniętych chorobą występuje wsteczne miesiączkowanie. Nowe dowody przemawiają za hipotezą, że rozwój endometriozy jest spowodowany pojawieniem się prymitywnych komórek endometrialnych poza macicą, w trakcie organogenezy. Każda dysregulacja genów zaangażowanych w różnicowanie struktur anatomicznych układu moczowo-płciowego prowadzi do różnych anomalii i może powodować nieprawidłowe umiejscowienie komórek macierzystych, co w połączeniu ze zmianami immunologicznymi i prozapalnym środowiskiem otrzewnej, będzie determinowało progresję w kierunku endometriozy.

W przypadku endometriozy dostępne obecnie możliwości terapeutyczne mają wiele ograniczeń. Jednakże postęp w badaniach genetycznych, jaki dokonał się w ciągu ostatnich lat, pozwala na wyodrębnienie pewnych tarcz molekularnych dla nowych metod terapeutycznych. Badania genetyczne mogą pozwolić na ustalenie nowych schematów terapeutycznych i przyczynić się do poprawy wyników leczenia endometriozy.

Uwarunkowania genetyczne i epigenetyczne stanowią sprzyjające podłoże rozwoju endometriozy, która jest wywoływana przez czynniki środowiskowe lub zmiany genetyczne i epigenetyczne wywoływane czynnikami środowiskowymi są konieczne do przejścia od subtelnych zmian endometriozy do stadium chorobowego.

Istnieje coraz więcej dowodów na to, że endometrioza dziedziczona jest jako złożona cecha genetyczna, w której różne geny wyznaczające podatność na tę chorobę, oddziałują na siebie wzajemnie i na środowisko w celu wytworzenia fenotypu. Dziedziczną skłonność do zachorowania na endometriozę usprawiedliwia więc fakt rosnącego zainteresowania identyfikacją genów oraz polimorfizmów genetycznych (polimorfizmy pojedynczych nukleotydów SNP) predysponujących (kwalifikujących) kobiety do grupy ryzyka rozwoju endometriozy.

Pewne układy SNP, być może powiązane w dziedziczone wspólnie haplotypy, mogą sprzyjać rozwojowi endometriozy. W badaniach poświęconych analizie sprzężeń przeprowadzonych na tysiącach rodzin obciążonych endometriozą (GWAS – genome-wide association studies) z różnych populacji wskazano na szereg potencjalnych regionów związanych z dziedziczeniem tej choroby [1, 2].

Jako lekarza ginekologa interesuje mnie w szczególności endometrioza, z którą to chorobą spotykam się na co dzień w praktyce lekarskiej. Nadal brakuje schematu diagnostycznego w przeprowadzaniu niezwykle ważnych i potrzebnych nieinwazyjnych badań dla wykrycia endometriozy. Wiem ile trudności sprawia ginekologom ustalenie optymalnego postępowania w przypadku kobiet cierpiących na to schorzenie. Problem z endometriozą polega na tym, że jest ona zbyt późno rozpoznawana.

Agresywność endometriozy jest porównywalna do chorób nowotworowych. Dlatego niezwykle cennym wydaje się poszukiwanie takich metod diagnostycznych, które w sposób obiektywny i jeszcze bardziej dokładny umożliwiłyby rozpoznanie tej groźnej choroby. Im więcej i szybciej wiemy o endometriozie, tym skuteczniej jesteśmy w stanie pomagać cierpiącym na nią kobietom.

Od dawna przypuszczano, że endometrioza może mieć podłoże genetyczne i być dziedziczna. Jednakże nie były znane mutacje genetyczne zwiększające ryzyko wystąpienia tej choroby. Dopiero w 2010 roku odkryto pierwsze geny potwierdzające tę teorię. W toku badań zaobserwowano, że udział czynnika genetycznego jest tym większy, im cięższa postać endometriozy.

Odkrycie genetycznego czynnika endometriozy w dużym stopniu pomogło w opracowaniu nowych schematów diagnozowania i leczenia tej choroby.

Obszar genetyczny endometriozy jest jeszcze w dużej mierze nieprzebadany i skrywa wiele tajemnic. Dotychczasowe badania są ciągle niezadowalające i nie doczekały się do chwili obecnej kompleksowego i jednoznacznego opracowania. Dlatego w temacie moich zainteresowań znalazły się procesy molekularne związane z endometriozą, której diagnostyka i leczenie jest nadal mało skuteczne. Dlatego też podjąłem prace badawcze dotyczące tego problemu.

Odmienne cechy fenotypowe obserwowane wśród ludzi uwarunkowane są milionami polimorfizmów rozsianych w genomie, z których polimorfizmy pojedynczego nukleotydu (SNP – single nucleotide polymorphism) odpowiadają za około 90% całkowitej zmienności fenotypu. Warianty polimorficzne występują czasem u dużego odsetka populacji i wiążą się z różnorodnymi cechami fenotypowymi, w tym z podatnością na różne schorzenia. Sugeruje się, że pewne układy SNP, być może powiązane w dziedziczone wspólnie haplotypy, mogą sprzyjać rozwojowi endometriozy.

W początkowym etapie moich badań, którego efektem była pierwsza publikacja z cyklu pt: **„Polymorphisms in the 3'UTR Region of ESR2 and CYP19A1 Genes in Women With Endometriosis. dotyczącej analizy genów ESR2 i CYP19A1”** wykazałem istnienie pewnych zależności wariantów polimorficznych ESR2 i CYP19A1 z endometriozą. W badaniu wzięło udział 200 pacjentek: 100 z endometriozą i 100 kobiet wolnych od tej choroby. Do analizy polimorfizmu zastosowano metodę sekwencjonowania Sangera. Zidentyfikowano istotne statystycznie korelacje między nowymi, wcześniej nie opisanymi, dwoma SNP i endometriozą: rs4986938 i rs928554. W przypadku polimorfizmu rs4986938 stwierdzono, że genotyp AA zmniejsza ryzyko endometriozy. Podobny efekt wykazano w przypadku występowanie genotypu AG polimorfizmu rs928554. Uzyskane w trakcie analizy wyniki wskazują, że polimorfizmy rs4986938 i rs928554 genu ESR2 są związane z występowaniem endometriozy.

Pogłębianie wiedzy w zakresie genetycznych uwarunkowań endometriozy i możliwość zastosowania nowoczesnych technik biologii molekularnej skłoniło mnie do podjęcia kolejnych prac badawczych.

Aby sprostać palącej potrzebie medycznej w zakresie leczenia endometriozy, powinno się podążać w kierunku zbadania nowych mechanizmów, które mogą wyjaśnić, skąd bierze się ta choroba i jak wygląda jej rozwój. Warto skupiać się na mechanizmach molekularnych, które mogą wpływać na objawy najbardziej istotne dla pacjentek.

W ostatnich latach wykryto, że niewielkie cząsteczki regulacyjne zwane mikroRNA są rozregulowane w tkance endometriotycznej, przyczyniając się w ten sposób do

inwazyjnego rozwoju komórek endometriotycznych. W eksperymentach na hodowlach komórkowych zwiększenie ekspresji wybranych mikroRNA zahamowało wiele patogenicznych cech pobranych od pacjenta komórek endometriotycznych, w tym ich wzrost, inwazyjność i macierzystość. Sugeruje się, że w spersonalizowanych terapiach będzie można wykorzystać na przykład leki oparte o mikroRNA.

Oprócz mikroRNA istotne znaczenie w endometriozie wydają się mieć inne niekodujące RNA - długie niekodujące RNA (lncRNA), które ostatnio w kontekście endometriozy stały się przedmiotem zainteresowania badaczy. Efektem zagłębienia się w temat niekodujących RNA w endometriozie była moja praca przeglądowa pt: **„microRNAs (miRNAs) and long non-coding RNAs (lncRNAs) in endometriosis (review of literature)”**, opublikowana w czasopiśmie Ginekologia Polska. Jeden z rozdziałów poświęciłem lncRNA i ich roli w endometriozie.

LncRNA, które obejmują więcej niż 200 pz są podtypem niekodujących RNA (ncRNA). W przeciwieństwie do grupy krótkich, niekodujących RNA (sncRNA) takich jak mikroRNA (miRNA), długie niekodujące RNA (lncRNA), wykazują zwykle większe dopasowanie sekwencji, a tym samym specyficzność działania względem docelowych genów. Niekodujące cząsteczki RNA uczestniczą w procesach regulacji praktycznie na wszystkich etapach transmisji informacji genetycznej: od DNA do białka. Szczególnie spektakularne jest zaangażowanie pewnych niekodujących cząsteczek RNA w mechanizmy prowadzące do włączania lub wyłączania ekspresji poszczególnych genów. Wiadomo, że ekspresja wielu lncRNA podlega zmianom w: a) surowicy kobiet z endometriozą w porównaniu ze zdrowymi kobietami, b) eutopowym endometrium kobiet z endometriozą w porównaniu ze zdrowymi kobietami, c) w ektopowym endometrium jajników w porównaniu z eutopowym endometrium u kobiet z endometriozą.

LncRNAmogą być kandydatami na wiarygodne biomarkery laboratoryjne tej choroby. Ze względu na wysoką stabilność w płynach biologicznych i specyficzność tkankową, cząsteczki te mogą okazać się pożądanymi biomarkerami w diagnostyce endometriozy, nadając zupełnie nowy wymiar nieinwazyjnej diagnostyce choroby.

Przedmiotem mojego zainteresowania była analiza ekspresji czterech lncRNA UCA1, MALAT1, TC0101441 oraz H19. Doniesienia literaturowe wskazują, że badanie powyższych sekwencji lncRNA jest jak najbardziej wskazane w kontekście endometriozy.

W przypadku UCA1 sugeruje się na udział wariantów genetycznych tego genu w rozwoju endometriozy i związanej z nią niepłodności [7-9]. UCA1 może być zaangażowany w występowanie i rozwój endometriozy poprzez promowanie proliferacji komórek i hamowanie apoptozy [10].

MALAT1 bierze udział w proliferacji, apoptozie, migracji, inwazji i rozprzestrzenianiu się przerzutów komórek nowotworowych [11]. Endometriozę można uznać za łagodną chorobę przerzutową, a ponadto, ze względu na zdolność

tkanki endometrium do naciekania, tworzenia przerzutów i nawrotów, podobnie jak nowotwory, jest bardzo podobna do raka. Dane epidemiologiczne sugerują, że endometrioza ma potencjał złośliwy [12, 13]. Wykazano, że ekspresja MALAT1 jest znacząco podwyższona w ektopowych tkankach endometrium w porównaniu z eutopowymi tkankami endometrium [14]. MALAT1 może promować apoptozę komórek endometrium i poprzez regulację szlaku MMP-9/NF- κ B/iNOS, pośredniczyć w patogenezie endometriozy [15].

W przypadku lncRNA-TC0101441 transport zewnątrzkomórkowy lncRNA-TC0101441 za pośrednictwem pęcherzyków egzosomalnych może wzmocnić migrację i inwazję endometriozy [16, 17].

Znaczenie H19 wykazano w chorobach związanych z niepłodnością. Do takich chorób zalicza się endometriozę. Wykazano, że ekspresja H19 zmniejsza się w endometrium tkanki niepłodnych kobiet. Badania lncRNA H19 na poziomie endometrium eutopowego wykazały obniżenie poziomu lncRNA H19 w przypadku pacjentek z endometriozą [18].

W kolejnej pracy z cyklu pt: **„Analysis of Long Non-Coding RNA (lncRNA) UCA1, MALAT1, TC0101441, and H19 Expression in Endometriosis”** w kontekście poziomów ekspresji czterech wybranych lncRNA, ocenie zostały poddane: zaawansowanie kliniczne endometriozy, wiek, BMI czy liczba porodów i poronień. Wykazałem, że trzy z czterech badanych przez nas sekwencji (UCA1, MALAT1, TC0101441) okazały się nieistotne statystycznie z punktu widzenia ryzyka endometriozy. Jedynie poziom ekspresji genu H19 był znamienne statystycznie niższy u pacjentek z endometriozą i korelował z klasyfikacją endometriozy wg skali rASRM (The Revised American Society for Reproductive Medicine). Moje badania pokazują, że ekspresja H19 odgrywa ważną rolę w patogenezie endometriozy. Ze względu na niewielką liczbę badań dotyczących analiz ekspresji lncRNA u pacjentek z endometriozą, efekt badań wnosi istotny wkład w poszerzenie wiedzy na temat wpływu czynników genetycznych na rozwój endometriozy.

W badaniach w mojej kolejnej pracy z cyklu pt: **„Long Non-Coding RNA SNHG4 Expression in Women with Endometriosis: A Pilot Study.”** wykazałem związek kolejnego lncRNA SNHG4 z endometriozą. Przebadałem 100 pacjentek z endometriozą i 100 pacjentek wolnych od tej choroby. Nasza analiza statystyczna wykazała istotną korelację poziomu ekspresji SNHG4 z endometriozą. W przypadkach choroby sekwencja ta wykazała wyraźne podwyższenie ekspresji. Podwyższony poziom ekspresji SNHG4 korelował ze stopniem zróżnicowania endometriozy.

Zaburzoną ekspresję SNHG4 można obserwować w wielu chorobach nowotworowych. Wysoka ekspresja SNHG4 jest ściśle związana z cechami kliniczno-patologicznymi i rokowaniem niektórych nowotworów. SNHG4 może zatem być stosowany jako biomarker prognostyczny dla tych chorób. Badania eksperymentalne wykazały, że SNHG4 może promować proliferację komórek, inwazję, migrację, przejście epitelialno-mezenchymalne i hamować apoptozę [19]. Ukierunkowane

hamowanie SNHG4 wydaje się być korzystne w hamowaniu przeżycia i rozwoju komórek nowotworowych, co może przyczynić się do efektów terapeutycznych. SNHG4 może stać się potencjalnym celem terapeutycznym dla różnych chorób.

Endometrioza nie jest zaliczana do nowotworów złośliwych, jednakże jej złożona budowa (komponent nabłonkowy, zrębowy i naczyniowy) oraz zmiany materiału genetycznego (utrata heterozygotyczności genów supresorowych) są zbliżone do obserwowanego w guzach złośliwych. Także odsetek komórek nieprawidłowych w endometrium ektopowym jest znacznie wyższy niż w prawidłowej błonie śluzowej macicy. Banz i wsp., stosując technikę mikromacierzy, wykazali różnice w ekspresji genów w tkance raka endometroidalnego oraz raka endometroidalnego powstającego w ognisku endometriozy [20]. Istnieją nieliczne doniesienia o roli SNHG4 w chorobach nienowotworowych jak udar niedokrwieny mózgu, noworodkowe zapalenie płuc, retinopatia cukrzycowa, czy endometrioza [21-24]; dlatego przyszłe badania mogą być skierowane w ich kierunku.

Ostatnie badania wykazały, że poziomy ekspresji lncRNA HOTAIR były podwyższone w endometriozie [25, 26, 27]. HOTAIR to lncRNA o długości 2,2 kb, który jest transkrybowany z antysensownej nici genu HOXC obecnego na chromosomie 12. Dane literaturowe wskazują, że u pacjentek z agresywną endometrią występowały wyższe poziomy lncRNA HOTAIR [25]. Badania wykazały, że poziom ekspresji lncRNA HOTAIR był podwyższony w ektopowych zmianach endometriozy. Ponadto stwierdzono, że egzosomalna lncRNA HOTAIR promuje progresję endometriozy i angiogenezę poprzez szlak miR-761 / HDAC1 [27].

Powyższe badania potwierdzają, że zmiany genetyczne w lncRNA HOTAIR mogą być jednym z czynników ryzyka prowadzących do rozwoju endometriozy. Jednak pomimo tych doniesień o regulacji endometriozy przez lncRNA HOTAIR, jej mechanizm molekularny nie został w pełni wyjaśniony.

W mojej ostatniej pracy z cyklu pt: **Analysis of lncRNA Homebox Transcript antisense RNA (HOTAIR) expression in Polish Women with Endometriosis** wykazałem statystycznie znamienne wyższą ekspresję HOTAIR w przypadkach endometriozy w porównaniu z ekspresją w grupie kontrolnej. W odniesieniu do klasyfikacji endometriozy (stadium I-IV) nastąpił statystycznie istotny wzrost ekspresji HOTAIR w stadium IV. Opisane przeze mnie badania sugerują znaczącą rolę ekspresji lncRNA HOTAIR w patogenezie endometriozy.

Moje badania są niezwykle istotne, ponieważ badanie ekspresji genów lncRNA może stanowić w przyszłości cel dla terapii spersonalizowanej. Do tej pory proces rozpoznania choroby trwał długo. W celu wykrycia endometriozy najczęściej stosuje się rezonans magnetyczny lub laparoskopię, dzięki której oprócz wartości rozpoznawczych, zyskujemy informacje na temat stopnia zaawansowania choroby. Jednak stosując nawet inwazyjne zabiegi - jak laparoskopię - nie ma pewności, że ognisko endometrium zostanie prawidłowo zlokalizowane. Badania genetyczne ekspresji genów lncRNA mogą skrócić ścieżkę diagnostyczną. W przyszłości mogą być

wykorzystane do stworzenia małoinwazyjnego testu na endometriozę. Dzięki badaniom ekspresji genów możliwe będzie wcześniejsze rozpoznanie choroby co pozwoli na wcześniejsze rozpoczęcie leczenia.

Wyniki moich prac nad endometriozą zostały zauważone i docenione przez międzynarodową grupę naukowców. W wyniku współpracy międzyośrodkowej powstała publikacja będąca metaanalizą w prestiżowym czasopiśmie *Nature Genetics*, której jestem współautorem.

*Rahmioglu N, Mortlock S, Ghiasi M, Møller PL, Stefansdottir L, Galarneau G, Turman C, Danning R, Law MH, Sapkota Y, Christofidou P, Skarp S, Giri A, Banasik K, Krassowski M, Lepamets M, Marciniak B, Nõukas M, Perro D, Sliz E, Sobalska-Kwapis M, Thorleifsson G, Topbas-Selcuki NF, Vitonis A, Westergaard D, Arnadottir R, Burgdorf KS, Campbell A, Cheuk CSK, Clementi C, Cook J, De Vivo I, DiVasta A, Dorien O, Donoghue JF, Edwards T, Fontanillas P, Fung JN, Geirsson RT, Girling JE, Harkki P, Harris HR, Healey M, Heikinheimo O, Holdsworth-Carson S, Hostettler IC, Houlden H, Houshdaran S, Irwin JC, Jarvelin MR, Kamatani Y, Kennedy SH, Kepka E, Kettunen J, Kubo M, Kulig B, Kurra V, Laivuori H, Laufer MR, Lindgren CM, MacGregor S, Mangino M, Martin NG, Matalliotaki C, Matalliotakis M, Murray AD, Ndungu A, Nezhat C, Olsen CM, Opoku-Anane J, Padmanabhan S, Paranjpe M, Peters M, Polak G, Porteous DJ, Rabban J, Rexrode KM, Romanowicz H, Saare M, Saavalainen L, Schork AJ, Sen S, Shafrir AL, Siewierska-Górska A, Słomka M, Smith BH, Smolarz B, **Szaflik T**, Szyłło K, Takahashi A, Terry KL, Tomassetti C, Treloar SA, Vanhie A, Vincent K, Vo KC, Werring DJ, Zeggini E, Zervou MI i in. The genetic basis of endometriosis and comorbidity with other pain and inflammatory conditions. *Nat Genet.* 2023 Mar;55(3):423-436. doi: 10.1038/s41588-023-01323*

W powyższej pracy wielocephowe analizy genetyczne pozwoliły zidentyfikować znaczące, wspólne warianty związane z endometriozą. Wiele genów było związanych z odczuwaniem i utrzymywaniem się bólu (SRP14/BMF, GDAP1, MLLT10, BSN i NGF).

Zaobserwowaliśmy istotne korelacje genetyczne między endometriozą, a 11 stanami bólowymi, w tym migreną, bólem pleców i przewlekłym bólem wielomiejscowym, a także stanami zapalnymi, w tym astmą i chorobą zwyrodnieniową stawów. Migreny, ból pleców i ból wielu części ciała może być związany z określonym profilem genetycznym. To może się również wiązać z tzw. nadwrażliwością ośrodkowego układu nerwowego, która powoduje, że ból przewlekły staje się bardziej dokuczliwy niż inne rodzaje bólu. Odkrycie otwiera drogę do wypracowania nowych, lepiej dopasowanych sposobów leczenia endometriozy.

Podsumowanie

Uzyskane w zaprezentowanym cyklu prac wyniki przyczyniają się do poszerzenia wiedzy w temacie mechanizmów molekularnych sprzyjających rozwojowi endometriozy. Poznanie relacji pomiędzy polimorfizmami czy ekspresją genów a endometriozą może przyczynić się do opracowywania nowych strategii terapeutycznych w kontekście tej choroby. Badanie genów może stanowić w przyszłości cel dla terapii spersonalizowanej.

Zastosowanie najnowszych technologii umożliwia ustalenie profilu genetycznego, stanowiącego obiecującą perspektywę wczesnej diagnostyki. W przyszłości badania genetyczne mogą stać się złotym standardem diagnostycznym i wyeliminować inwazyjne laparoskopie. Warto podkreślić, że większa wiedza na temat patofizjologicznych mechanizmów endometriozy jest kluczowa dla szybszej i dokładniejszej diagnozy.

W chwili obecnej moja działalność naukowa koncentruje się przede wszystkim na poszukiwaniu markerów genetycznych endometriozy. W ciągu tych wielu lat intensywnej pracy badawczej udokumentowanej publikacjami głównym tematem moich zainteresowań naukowych stała się rola mechanizmów molekularnych w endometriozie. Moje badania naukowe, które konsekwentnie prowadzę od wielu lat opierają się o najnowsze techniki biologii molekularnej umożliwiającej analizy zmian genetycznych wpływających na rozwój endometriozy. Uzyskane przeze mnie wyniki badań są nowatorskie w skali polskiej a także międzynarodowej. O ich wartości świadczy fakt, że chętnie były i nadal są przyjmowane do publikacji zarówno w czasopiśmie krajowych jak i zagranicznych.

Piśmiennictwo:

1. Montgomery GW, Mortlock S, et al. Should genetics now be considered the pre-eminent etiologic factor in endometriosis? J Minim Invasive Gynecol 2020;27(2):280-6
2. Nyholt DR, Low SK, Anderson CA, et al. Genome-wide association meta-analysis identifies new endometriosis risk loci. Nat Genet 2012;44(12):1355-9
3. Bulun SE, Monsavais D, Pavone ME, Dyson M, Xue Q, Attar E, Tokunaga H, Su EJ. Role of estrogen receptor- β in endometriosis. Semin Reprod Med. 2012; 30(1): 39-45.
4. Yi K, Yang L, Lan Z, Xi M. The association between CYP19 polymorphism and endometriosis risk: a system review and meta-analysis. Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol 2016; 199: 42-8.
5. Yilmaz BD, Bulun SE. Endometriosis and nuclear receptors. Hum Reprod Update. 2019, 2019 Jul 1;25(4):473-485.

6. Jarząbek K, Koda M, Walentowicz-Sadlecka M, Grabiec M, Laudanski P, Wołczyński S. Altered expression of ERs, aromatase, and COX2 connected to estrogen action in type 1 endometrial cancer biology. *Tumour Biol.* 2013; 34(6): 4007-16
7. Huang H, Zhu Z, Song, Y. Down regulation of lncRNA UCA1 as a diagnostic and prognostic biomarker for ovarian endometriosis. *Rev Assoc Méd Bras* 2019, 65, 336–341.
8. Bhan A, Soleimani M, Mandal S.S. Long-noncoding RNA and Cancer: A New Paradigm. *Cancer Res* 2017, 77, 3965–3981.
9. Chang CY, Yang L, Tse J, Lo L.C, Tseng C.C, Sun L, Lai M.T, Chen P.H, Hwang T, Chen C.M, Tsai F.J, Sheu, J.J. Genetic variations in UCA1, a lncRNA functioning as a miRNA sponge, determine endometriosis development and the potential associated infertility via regulating lipogenesis. *PLoS One* 2022, 17, e0271616.
10. Jiang L, Wan Y, Feng Z, Liu D, Ouyang L, Li Y, Liu K. Long-noncoding RNA UCA1 Is Related to Autophagy and Apoptosis in Endometrial Stromal Cells. *Front Oncol* 2021, 10, 618472.
11. Gutschner T, Hammerle M, Diederichs S. MALAT1 – a paradigm for long-noncoding RNA function in cancer. *J Mol Med (Berl)* 2013, 91, 791–801.
12. Johnson N.P, Hummelshoj L. Consensus on current management of endometriosis. *Hum Reprod* 2013, 28, 1552–1568.
13. Nezhat F, Datta M.S, Hanson V, Pejovic T., Nezhat C, Nezhat, C. The relationship of endometriosis and ovarian malignancy: a review. *Fertil Steril* 2008, 90, 1559-1570.
14. Liang Z, Chen Y, Zhao Y, Xu C, Zhang A, Zhang Q, Wang D, He J, Hua W, Duan P. miR-200c suppresses endometriosis by targeting MALAT1 in vitro and in vivo. *Stem Cell Res Ther* 2017, 8, 251.
15. Yu J, Chen L.H, Zhang B, Zheng Q.M. The modulation of endometriosis by lncRNA MALAT1 via NF-κB/iNOS. *Eur Rev Med Pharmacol Sci* 2019, 23, 4073–4080
16. Ding J, Feng W, Zhang Y, Lv T, Wang J, Hua K. Effects of oestrogen on long-noncoding RNA expression in oestrogen receptor alpha-positive ovarian cancer cells. *J Steroid Biochem Mol Biol* 2014, 141, 60-70.
17. Qiu J.J, Lin X.J, Zheng T.T, Tang, X.Y, Zhang Y, Hua K.Q. The Exosomal Long Non coding RNA aHIF is Upregulated in Serum From Patients With Endometriosis and Promotes Angiogenesis in Endometriosis. *Reprod Sci* 2019, 26, 1590-1602.
18. Ghazal, S.; McKinnon, B.; Zhou, J.; Mueller, M.; Men, Y.; Yang, L.; Mueller, M.; Flannery, C.; Huang, Y.; Taylor, H.S. H19 lncRNA alters stromal cell growth via IGF signaling in the endometrium of women with endometriosis. *EMBO Mol Med* 2015, 7, 996–1003.

19. Qin Y, Sun W, Wang Z, Dong W, He L, Zhang T, Zhang H. Long non-coding small nucleolar RNA host genes (SNHG5) in endocrine-related cancers. *Onco Targets Ther.* 2020;13:7699–717
20. Banz C, Ungethuem U, Kuban RJ, Diedrich K, Lengyel E, Hornung D. The molecular signature of endometriosis-associated endometrioid ovarian cancer differs significantly from endometriosis-independent endometrioid ovarian cancer. *Fertil Steril.* 2010 Sep;94(4):1212-1217.
21. Zhang S, Sun W.-C, Liang Z.-D, Yin X.-R, Ji, Z.-R, Chen X.-H, Wei M.-J, Pei L. LncRNA SNHG4 attenuates inflammatory responses by sponging miR-449c-5p and up-regulating STAT6 in microglial during cerebral ischemia-reperfusion injury. *Drug Des. Dev. Ther.* 2020, ume 14, 3683–3695.
22. Li S.-X, Yan W, Liu J.-P, Zhao Y.-J, Chen L. Long-noncoding RNA SNHG4 remits lipopolysaccharide-engendered inflammatory lung damage by inhibiting METTL3—Mediated m6A level of STAT2 mRNA. *Mol. Immunol.* 2021, 139, 10–22
23. Yu J, Qin M, Li J, Cui S. LncRNA SNHG4 sponges miR-200b to inhibit cell apoptosis in diabetic retinopathy. *Arch. Physiol. Biochem.* 2021, 6, 1–6.
24. Liu Y, Huang X, Lu D, Feng Y, Xu R, Li X, Yin C, Xue B, Zhao H, Wang S et al. LncRNA SNHG4 promotes the increased growth of endometrial tissue outside the uterine cavity via regulating c-Met mediated by miR-148a-3p. *Mol. Cell Endocrinol.* 2020, 514, 110887
25. Chang CY, Tseng C.C, Lai M.T, Chiang A.J, Lo L.C, Chen C.M, Yen M.J, Sun, L, Yang L, Hwang T, Tsai F.J, Sheu J.J. Genetic impacts on thermostability of onco-lncRNA HOTAIR during the development and progression of endometriosis. *PLoS One* 2021, 16, :e0248168.
26. Bao Q, Zheng Q, Wang, S, Tang W, Zhang B. LncRNA HOTAIR regulates cell invasion and migration in endometriosis through miR-519b-3p/PRRG4 pathway. *Front Oncol* 2022, 12, :953055.
27. Zhang L, Yu Z, Qu Q, Li X, Lu X, Zhang H. Exosomal lncRNA HOTAIR promotes the progression and angiogenesis of endometriosis via the miR-761/HDAC1 axis and activation of STAT3-mediated inflammation. *Int J Nanomed* 2022, 17, 1155–1170.

5. Informacja o wykazywaniu się istotną aktywnością naukową albo artystyczną realizowaną w więcej niż jednej uczelni, instytucji naukowej lub instytucji kultury, w szczególności zagranicznej.

Możliwość pracy w Ośrodku Klinicznym – Instytucie CZMP w Łodzi pod kierunkiem wybitnych profesorów pozwoliło mi na aktywne uczestnictwo w pracy Kliniki zarówno naukowej, dydaktycznej jak i klinicznej. Swoje zainteresowania naukowe koncentrowałem na możliwościach diagnostyki ultrasonograficznej oraz poszukiwaniu czynników mogących mieć udział w etiopatogenezie endometriozy.

Poza przedstawionym powyżej cyklem publikacji stanowiących podstawę do ubiegania się o stopień doktora habilitowanego, mój dorobek naukowy obejmuje również inne prace opublikowane w recenzowanych czasopismach naukowych. Tematyka ich dotyczy głównie problemu endometriozy, ale również innych zagadnień. Sumaryczna wartość współczynnika **IF z** całego dorobku naukowego wynosi **61,814** a punktacji MNiSW – **945**.

Jednocześnie profil kliniki macierzystej oraz patronat naukowy prof. Krzysztofa Szyłto umożliwił mi ścisłą współpracę naukową z Zakładem Patomorfologii Klinicznej Instytutu Centrum Zdrowia Matki Polki w Łodzi, który utrzymuję od ponad 10 lat.

Moja działalność badawcza w I etapie dotyczyła przede wszystkim poszukiwania markerów nowotworów narządu rodnych kobiet i endometriozy. Nowotwory kobiecych narządów płciowych są najczęstszymi nowotworami u kobiet. Blisko połowa wszystkich nowotworów złośliwych kobiet dotyczy właśnie tej lokalizacji. Realizacja naszych wspólnych prac odbywała się także przy współpracy ze zlokalizowaną w strukturach Zakładu Patomorfologii Pracownią Genetyki Nowotworów. Dzięki tej współpracy w naszych badaniach zostały zastosowane metody biologii molekularnej, co stanowiło o dużej wartości wyników, które zostały opublikowane w czasopiśmie zagranicznym. W ramach współpracy powstała publikacja:

*Romanowicz H, Michalska MM, Samulak D, Malinowski J, **Szaflik T**, Bieńkiewicz J, Smolarz B. Association of R156R single nucleotide polymorphism of the ERCC2 gene with the susceptibility to ovarian cancer. Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol. 2017 Jan;208:36-40. doi: 10.1016/j.ejogrb.2016.11.012*

Trwająca od wielu lat współpraca z zakładem Patomorfologii Klinicznej i Pracownią Genetyki Nowotworów Instytutu Centrum Zdrowia Matki Polki w Łodzi zainspirowała mnie do poszerzenia moich zainteresowań badawczych mechanizmami genetycznymi uczestniczącymi w endometriozie. Nawiązałem także współpracę z Pracownią Biobank Uniwersytetu Łódzkiego. Jest to jednostka naukowa

Uniwersytetu Łódzkiego zajmująca się zagadnieniami biologii molekularnej i genetyki, oraz pobieraniem, gromadzeniem, przechowywaniem i udostępnianiem materiału biologicznego. Od roku 2016 należy również do dwóch innych organizacji zrzeszających biobanki: ESBB (European and Middle Eastern Society for Biopreservation and Biobanking) oraz BCNet (Biobank and Cohort Building Network).

Celem moich badań wraz z zespołem naukowców z Instytutu Centrum Zdrowia Matki Polki w Łodzi oraz Pracowni Biobank Uniwersytetu Łódzkiego było poszukiwanie markerów molekularnych endometriozy techniką GWAS.

W 2015 roku odbywałem **staż zagraniczny** w Klinice Ginekologii i Patofizjologii Rozrodu w Policlinico S. Orsola-Malpighi w Bolonii pod kierownictwem profesora Renato Seracchioli, który jest dyrektorem wyżej wymienionej Kliniki. Jest także dyrektorem Centrum Endometriozy i Przewlekłego Bólu Miednicy (Centro di Endometriosi e dolore Pelvico Cronico). Jest to największe Centrum badania endometriozy we Włoszech i jedno z największych w Europie. Profesor Seracchioli jest światowej sławy autorytetem w dziedzinie endometriozy. Jest autorem ponad 200 publikacji, w tym ponad 100 prac naukowych opublikowanych w recenzowanych czasopismach w bazie MEDLINE (dotyczących głównie endometriozy).

We wrześniu 2015 nawiązałem współpracę i wspólnie ze stroną włoską oraz Pracownią Biobank Uniwersytetu Łódzkiego uczestniczyłem aktywnie w przygotowywaniu projektu pt. Identyfikacja genów podatności na endometriozę za pomocą badań asocjacyjnych całego genomu (GWAS), wysłanego w roku 2015 (Nr rejestracyjny wniosku 2015/18/M/NZ5/00774) i 2016 (Nr rejestracyjny wniosku 2016/22/M/NZ5/00659) do Narodowego Centrum Nauki w ramach konkursu HARMONIA. Niestety projekt nie został zakwalifikowany do realizacji, ale zdobyliśmy zespołowe, międzyośrodkowe doświadczenie w przygotowaniu projektu. Ostatecznie badania GWAS zostały zrealizowane dzięki uzyskaniu wsparcia finansowego z funduszy statutowych Instytutu Centrum Zdrowia Matki Polki w Łodzi i opublikowane w 2017 roku w European Journal of Obstetrics and Gynecology and Reproductive Biology.

*Sobalska-Kwapis M, Smolarz B, Słomka M, **Szaflik T**, Kępka E, Kulig B, Siewierska-Górska A, Polak G, Romanowicz H, Strapagiel D, Szyłło K. New variants near RHOJ and C2, HLA-DRA region and susceptibility to endometriosis in the Polish population-The genome-wide association study. Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol. **2017** Oct;217:106-112*

W przeprowadzonych analizach GWAS wykryto statystycznie istotne powiązania pomiędzy nowymi 35 SNPs, nieopisanymi wcześniej w literaturze a endometriozą. Polimorfizmy te występowały w obszarze genów, dla których, w oparciu o dostępną literaturę, nie znaleziono wytłumaczenia ich potencjalnej roli w endometriozie. Jedynie w przypadku polimorfizmu rs10129516 zlokalizowanego w obszarze międzygenowym PARP1P2 i RHOJ można zasugerować jego potencjalną rolę w rozwoju tej choroby. Warto podkreślić, że w tamtym czasie (2017) istniała niewielka liczba prac obejmujących badania GWAS, dlatego wyniki naszego zespołu były nowatorskie w skali polskiej i często międzynarodowej.

Powyższe badania zachęciły mnie do dalszego zgłębiania podłoża genetycznego endometriozy. W trakcie odbywania specjalizacji z położnictwa i ginekologii w Klinice Ginekologii Operacyjnej i Ginekologii Onkologicznej aplikowałem o Grant Młodego Naukowca „Polimorfizm regionu 3'UTR genów ESR2 oraz CYP19A1 oraz jego wpływ na allelo-specyficzną ekspresję genów u kobiet z endometriozą, 2016/VI/13-MN”, który mi przyznano i zostałem jego kierownikiem.

Ta działalność naukowa o olbrzymim znaczeniu diagnostycznym i praktycznym została uwieńczona napisaniem i obroną w 2019 roku pracy doktorskiej pod kierunkiem prof. Krzysztofa Szyłło, pt: **„Rola ekspresji genu ESR2 oraz CYP19A1 u kobiet z endometriozą”**, w której zwróciłem uwagę na znaczącą rolę genów receptorów estrogenowych a zwłaszcza genu *ESR2* oraz genu *CYP19A1* dla podatności i występowania endometriozy.

Grant zakończył się nie tylko obroną rozprawy doktorskiej, a także trzema nowymi publikacjami naukowymi:

1. Szaflik T, Smolarz B, Mroczkowska B, Kulig B, Soja M, Romanowicz H, Bryś M, Forma E, Szyłło K. An Analysis of ESR2 and CYP19A1 Gene Expression Levels in Women With Endometriosis. *In Vivo*. **2020** Jul-Aug;34(4):1765-1771. doi: 10.21873/in vivo.11970.
2. Szaflik T, Smolarz B, Romanowicz H, Bryś M, Forma E, Szyłło K. Polymorphisms in the 3'UTR Region of ESR2 and CYP19A1 Genes in Women With Endometriosis. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*. **2020** Jul;250:241-245. doi: 10.1016/j.ejogrb.2020.05.023
3. Beata Smolarz, Tomasz Szaflik, Hanna Romanowicz, Krzysztof Szyłło Polymorphisms in the 3 UTR Region of ESR2 and CYP19A1 Genes and Its Influence on Allele-Specific Gene Expression in Endometriosis. *Disease Markers* Volume **2020** | Article ID 8845704 | <https://doi.org/10.1155/2020/8845704>

Receptory estrogenowe działające jako czynniki transkrypcyjne, odgrywają znaczącą rolę we wzroście i różnicowaniu się endometrium, a także w licznych biologicznych funkcjach w endometrium eutopowym oraz endometriozie. Receptor ER β kodowany przez gen *ESR2* jest dominującą izoformą u chorych z endometriozą [3]. Wykazano istnienie odmiennej ekspresji aromatazy w ogniskach endometriozy w porównaniu z eutopowym endometrium. *CYP19A1* jest genem kodującym aromatazę – enzymu uczestniczącego w biosyntezie estrogenów.

W badaniach zwraca się uwagę na znaczącą rolę genów receptorów estrogenowych a zwłaszcza genu *ESR2* oraz genu *CYP19A1* dla podatności i występowania endometriozy [4-6].

W badanej grupie kobiet z endometriozą wykazałem istotny wzrost ekspresji genu *ESR2* co może świadczyć o udziale tego czynnika w patogenezie endometriozy. W grupie pacjentek z guzkami endometrialnymi powłok jamy brzusznej wykazałem istotnie wyższą ekspresję genu *ESR2*. Dowodzi to istotnej roli genu *ESR2* w patogenezie tej postaci endometriozy. W grupie pacjentek z torbielami endometrialnymi jajnika oraz endometriozą otrzewnową poziom ekspresji genu *CYP19A1* jest związany ze stopniem zaawansowania endometriozy wg klasyfikacji rASRM. W przypadku nieródek z torbielami endometrialnymi wykazałem znamiennej statystycznie korelację z ekspresją genu *CYP19A1*.

Poziom estrogenów w organizmie warunkuje w dużej mierze aktywności enzymów biorących udział w ich syntezie i katabolizmie, kodowanych m.in. przez polimorficzne geny. Dlatego też prowadzi się badania mające na celu wykazanie powiązań pomiędzy polimorfizmami a chorobami estrogenozależnymi do których należy rak piersi, rak endometrium, osteoporoza a także endometrioza. Ryzyko występowania endometriozy ocenia się w powiązaniu z polimorfizmami różnych genów uczestniczących w biosyntezie estrogenów: w tym *CYP19A1* i *ESR2*.

Mój dorobek naukowy obejmuje również inne prace opublikowane w recenzowanych czasopismach naukowych. Tematyka ich dotyczy zagadnień związanych z:

- nowotworami narządów rodnych

Głównym moim zainteresowaniem badawczym jest poszukiwanie wariantów genetycznych, które mogą brać udział w powstawaniu nowotworów narządów rodnych u kobiet oraz które warianty genetyczne nie mają wpływu na procesy transformacji nowotworowej. Wykrycie zarówno „pozytywnych” jak i „negatywnych” markerów nowotworzenia może odgrywać rolę w definiowaniu czynników ryzyka narządów rodnych. W chwili obecnej brak jest wiarygodnych metod diagnostycznych umożliwiających wczesne rozpoznawanie raka jajnika. Rak jajnika rozpoznawany jest

późno, w zaawansowanych stadiach choroby ponieważ pierwsze niecharakterystyczne objawy są często ignorowane przez pacjentki. Mimo rosnącej wiedzy na temat raka jajnika nie udało się dotąd opracować skutecznego testu przesiewowego dla tego nowotworu. Konieczna wydaje się zatem identyfikacja nowych czynników ryzyka.

W przypadku raka trzonu macicy dotychczas nie udało się stworzyć badania skriningowego. Niezwykle istotne jest więc wyodrębnienie pacjentek z grup „wysokiego ryzyka” oraz ich ścisła kontrola.

Prowadzone przeze mnie badania w obszarze molekularnym dotyczącym narządów rodnych mogą przyczynić się nie tylko do poznania podłoża molekularnego nowotworów narządów rodnych, ale mogą mieć implikacje kliniczne. Łączna ocena wariantów genetycznych może pozwolić na wyłonienie grupy chorych o wysokim ryzyku zachorowania, co może być niezwykle użyteczne w praktyce medycznej, zwłaszcza w ocenie indywidualnego ryzyka zachorowania u bezobjawowych nosicieli. Wyniki badań podłoża genetycznego mogą w przyszłości posłużyć w diagnostyce i prewencji nowotworów dzięki stworzeniu potencjalnego algorytmu oceny ryzyka ich wystąpienia. Mogą zostać wykorzystane do poprawy wcześniejszego rozpoznawania nowotworów narządów rodnych a w efekcie wydłużenia czasu przeżycia chorych. Jestem współautorem prac z powyższego tematu:

1. Romanowicz H, Michalska MM, Samulak D, Malinowski J, **Szaflik T**, Bieńkiewicz J, Smolarz B. Association of R156R single nucleotide polymorphism of the ERCC2 gene with the susceptibility to ovarian cancer. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* **2017** Jan;208:36-40. doi: 10.1016/j.ejogrb.2016.11.012.
2. Romanowicz H, Bieńkiewicz J, **Szaflik T**, Smolarz B, Association between Gly322Asp polymorphism of hMSH2 (1032G>A, rs4987188) and endometrial cancer. *Int J Clin Exp Pathol* **2017**;10(2): 2199-2204

- schorzeniami kobiet ciężarnych

W moim obszarze badawczych zainteresowań znalazło się wewnątrzmaciczne zahamowanie wzrastania płodu (IUGR). Jest to jeden z najbardziej istotnych problemów współczesnej perinatologii. W ciążach obarczonych tą patologią znacząco częściej dochodzi do wewnątrzmacicznego niedotlenienia płodów, porodów przedwczesnych i operacyjnych oraz zgonów wewnątrzmacicznych i okołoporodowych. W grupie noworodków istotnie wzrasta liczba powikłań związanych z wcześniejszym zakończeniem ciąży hipotroficznej. Właściwe monitorowanie i ocena dobrostanu płodu są zatem kluczowe dla wyboru najbardziej optymalnego czasu i sposobu zakończenia takiej ciąży. Jestem współautorem pracy z powyższego tematu w czasopiśmie Ginekologia Polska:

Krzeszowski W, Janiak K, Kalinka J, Grzesiak M, Oszukowski P, **Szaflik T**, Wojtera J, Szaflik K. Współczesne metody monitorowania dobrostanu płodu w ciąży powikłanej wewnątrzmacicznym zahamowaniem wzrastania. *Ginekol Pol.* **2016**;87(2):135-42. doi: 10.17772/gp/61179

Uczestnictwo w krajowych i międzynarodowych zespołach badawczych:

1. Katedra Cytobiochemii Uniwersytetu Łódzkiego
2. Pracownia Biobank Uniwersytetu Łódzkiego
3. Kliniki i Zakłady zlokalizowane na terenie Instytutu Centrum Zdrowia Matki Polki w Łodzi:
 - Klinika Ginekologii, Rozrodczości i Terapii Płodu,
 - Zakład Patomorfologii Klinicznej,
 - Pracownia Genetyki Nowotworów Zakładu Patomorfologii Klinicznej,
 - Zakład Genetyki
4. Klinika Ginekologii i Fizjopatologii Rozrodczości w Szpitalu Uniwersyteckim im. Św. Urszuli w Bolonii (I'U.O. di Ginecologia e Fisiopatologia della Riproduzione Umana, Universitaria di Bologna, Policlinico S. Orsola-Malpighi) pod kierownictwem prof. Renato Seracchioli.
5. Oxford Endometriosis Care Centre, Nuffield Department of Women's and Reproductive Health, John Radcliffe Hospital, University of Oxford, Oxford, Wielka Brytania.

Bardzo istotna była dla mnie współpraca z grupą naukowców z Uniwersytetu w Oksfordzie (Wielka Brytania). Wspólnie prowadziliśmy badania dotyczące endometriozy. Wyniki naszych prac zostały opublikowane w prestiżowym czasopiśmie *Nature Genetics*.

Endometrioza pozostaje nadal moim głównym obszarem zainteresowania. Wyniki badań dotyczących tej jednostki chorobowej opublikowałem i publikuję w czasopismach krajowych i międzynarodowych.

W 2020 roku przyjęto moją pracę naukową dotyczącą endometriozy na **14 Światowy Kongres Endometriozy w Szanghaju / Dubaju**, ale konferencja została odwołana ze względu na pandemię Covid. W związku z tym pracę opublikowaliśmy w czasopiśmie zagranicznym *Life (Basel)* w 2023 r.

*Masternak M, Grabczak M, **Szaflik T**, Mroczkowska B, Mokros Ł, Smolarz B, Romanowicz H, Szyłło K. The Utility of Rectal Water Contrast Transvaginal Ultrasound for Assessment of Deep Bowel Endometriosis. Life (Basel). 2023 May 10;13(5):1151. doi: 10.3390/life13051151.*

Nagrody i wyróżnienia:

Za prace z obszaru badawczego endometriozy uzyskałem nagrody Dyrektora Instytutu Centrum Zdrowia Matki Polki w Łodzi.

- w roku **2021** otrzymałem **nagrodę I stopnia** Dyrektora Instytutu Centrum Zdrowia Matki Polki za wybitne osiągnięcia naukowe w postaci cyklu publikacji dotyczących badań podłoża molekularnego endometriozy.
- w roku **2023** otrzymałem **nagrodę III stopnia** Dyrektora Instytutu Centrum Zdrowia Matki Polki za wybitne osiągnięcia naukowe w postaci publikacji naukowej „Analysis of Long Non-Coding RNA (lncRNA) UCA1, MALAT1, TC0101441, and H19 Expression in Endometriosis”.

Prezentowane prace na konferencjach:

Aktywność naukową podjąłem w latach 2008 - 2011 w czasie studiów na Uniwersytecie Medycznym w Łodzi. Zaangażowany byłem w działalność naukową **Studenckiego Koła Naukowego** przy III Katedrze Ginekologii i Położnictwa Uniwersytetu Medycznego w Łodzi pod kierownictwem prof. Jana Wilczyńskiego i prof. Doroty Nowakowskiej. Aktywność ta zaowocowała wygłoszeniem wykładu "Diagnostyka TTTS" podczas Ogólnopolskiej Studenckiej Konferencji Naukowo-Szkoleniowej "Morfologiczne Podstawy Medycyny Perinatalnej" (Warszawa, Polska) – 6-7.03.2010 roku.

27.11.2016 – Wygłoszenie wykładu „Diagnostyka ultrasonograficzna głęboko naciekającej endometriozy miednicy mniejszej” podczas Konferencji „Diagnostyka Ultrasonograficzna w niepłodności, onkologii ginekologicznej i uroginekologii” (Poznań, Polska)

- 12.03.2017 – Wygłoszenie wykładu „Leczenie endometriozy” podczas „Tygodnia Świadomości Endometriozy” (Łódź, Polska)

- 23.03.2018 – Prowadzenie eksperckich warsztatów szkoleniowych „Zastosowanie Rectal Water Contrast Transvaginal Sonography (RWC-TVS) w diagnostyce głęboko naciekającej endometriozy” podczas „I Ogólnopolskiego Kongresu Endometriozy” (Warszawa, Polska)

- 10.06.2022 - Wygłoszenie wykładu „Diagnostyka i leczenie endometriozy głęboko naciekającej” podczas Sympozjum „Ultrasonografia w położnictwie, ginekologii i chorobach piersi - kontrowersje” (Gdańsk, Polska)

- 05.11.2022 - Wygłoszenie wykładu „Endometrioza przegrody odbytniczo - pochwowej” podczas "Międzynarodowego Kongresu Ginekologii Operacyjnej” (Katowice, Polska)

- 24.03.2023 - Wygłoszenie wykładu „Solutions in DE II - Bladder” podczas „European Endometriosis League Masterclass” (Kraków, Polska)

Jestem też współautorem rozdziałów w podręcznikach:

Autorzy: Szaflik Krzysztof, Borowski Dariusz, **Szaflik Tomasz**, Czajkowski Bogusław.

Tytuł oryginału: Fetoskopia, implantacja shuntów, amniotomizacja, amnioredukcja

Tytuł całości: Terapia płodu

Odpowiedzialni: redakcja, tłum.: Krzysztof Szaflik

Adres wydawniczy: Warszawa : Medical Tribune Polska, 2019

Opis fizyczny: 29-43

Autorzy: Szaflik Krzysztof, Zimmer Mariusz, Brązert Jacek, **Szaflik Tomasz**, Krzeszowski Waldemar.

Tytuł oryginału: Małowodzie

Tytuł całości: Terapia płodu

Odpowiedzialni: redakcja, tłum.: Krzysztof Szaflik

Adres wydawniczy: Warszawa : Medical Tribune Polska, 2019

Opis fizyczny: 47-70

Autorzy: Szaflik Krzysztof, Wojtera Justyna, Krzeszowski Waldemar, Draga Ewa, **Szaflik Tomasz**, Kostrzewa Marta

Tytuł oryginału: Inwazyjna diagnostyka prenatalna

Tytuł całości: Praktyczna ultrasonografia w położnictwie i ginekologii

Odpowiedzialni: redakcja, tłum.: red. Pietryga Marek, Brązert Jacek

Adres wydawniczy: Poznań : Exemplum, 2012

Opis fizyczny: s. 629-645

6. Informacja o osiągnięciach dydaktycznych, organizacyjnych oraz popularyzujących naukę lub sztukę.

W latach **2005-2011** uczestniczyłem w pracach Uczelnianej Rady Samorządu Studentów Uniwersytetu Medycznego w Łodzi. Ponadto w trakcie studiów byłem członkiem Rady Wydziału Uniwersytetu Medycznego w Łodzi.

Od 2015 do chwili obecnej jestem pracownikiem dydaktycznym w Klinice Ginekologii Operacyjnej, Endoskopowej i Ginekologii Onkologicznej (Uniwersytet Medyczny, Łódź). Prowadzę zajęcia praktyczne oraz teoretyczne ze studentami anglojęzycznymi V roku - Wydział Lekarski Anglojęzyczny.

W **2017** roku współorganizowałem „Tydzień Świadomości Endometriozy” w Instytucie Centrum Zdrowia Matki Polki w Łodzi wraz z wygłoszeniem wykładu „Leczenie endometriozy” oraz poradami eksperckimi dla pacjentek.

Natomiast w **2018** roku prowadziłem eksperckie warsztaty szkoleniowe „Zastosowanie Rectal Water Contrast Transvaginal Sonography (RWC-TVS) w diagnostyce głęboko naciekającej endometriozy” podczas „I Ogólnopolskiego Kongresu Endometriozy” (Warszawa, Polska)

W roku **2021** aplikowałem o Grant Wewnętrzny Instytutu Centrum Zdrowia Matki Polki w Łodzi „Badanie molekularnego podłoża endometriozy”, którego także zostałem **kierownikiem**. Badania są w trakcie realizacji.

W roku **2023** zostałem **wykonawcą** w Grancie Wewnętrznym Instytutu Centrum Zdrowia Matki Polki w Łodzi „Oznaczenie epigenetycznych markerów molekularnych w grupie pacjentek z endometriozą”.

Członkostwo w organizacjach:

- Członek Zarządu Sekcji Endometriozy Polskiego Towarzystwa Ginekologów i Położników (od 2013 do chwili obecnej)
- Członek PTGiP – Polskie Towarzystwo Ginekologów i Położników
- Członek ISUOG – International Society of Ultrasound in Obstetrics and Gynecology
- Członek Certified IOTA Group

Posiadane najważniejsze Certyfikaty:

- Certyfikat Umiejętności Wykonywania Badań Ultrasonograficznych w Położnictwie i Ginekologii Polskiego Towarzystwa Ginekologów i Położników
- Certyfikat FMF – Fetal Medicine Foundation
- Certyfikat IOTA – International Ovarian Tumor Analysis Group

Stáže zagraniczne:

- Bolonia (Włochy) - 2015

Granty naukowe - zrealizowane lub w trakcie realizacji:

- Grant Młodego Naukowca „Polimorfizm regionu 3'UTR genów ESR2 oraz CYP19A1 oraz jego wpływ na allelo-specyficzną ekspresję genów u kobiet z endometriozą, 2016/VI/13-MN” - **kierownik**
- Grant Wewnętrzny Instytutu Centrum Zdrowia Matki Polki w Łodzi „Badanie molekularnego podłoża endometriozy” - **kierownik**
- Grant Wewnętrzny Instytutu Centrum Zdrowia Matki Polki w Łodzi „Oznaczanie epigenetycznych markerów molekularnych w grupie pacjentek z endometriozą” – **wykonawca.**

7. Oprócz kwestii wymienionych w pkt. 1-6, wnioskodawca może podać inne informacje, ważne z jego punktu widzenia, dotyczące jego kariery zawodowej.

Udział w kursach i konferencjach zagranicznych:

- 12.07 - 06.08.2010 - Praktyki studenckie z zakresu Położnictwa, Ginekologii i Pediatrii w „Polyclinic Lito - Lito Private Hospital” (Paralimni, Cyprus)
- 11-14.04.2010 – Udział w „World Robotic Gynecology Congress II and the International Gynecologic Oncology Robotic Symposium III” (Orlando, USA)
- 9.09.2012 - 13.09.2012 - Uczestnictwo w "22nd World Congress on Ultrasound in Obstetrics and Gynecology" (Kopenhaga, Dania)
- 04-05.06.2015 – Udział w kursie z zakresu ultrasonografii ginekologicznej, adenomiozy, endometriozy oraz endometriozy głęboko naciekającej „Un Giorno Nei Nostri Ambulatori” (Bolonia, Włochy)
- 08-09.06.2015 – Udział w kursie teoretycznym i praktycznym z zakreśu histeroskopii i mini-resektoskopii „Corso teorico pratico di chirurgia isteroscopica e mini-resettoscopica” (Bolonia, Włochy)

- 19.06.2015 – Udział w kursie z zakresu ultrasonografii ginekologicznej, adenomiozy, endometriozy oraz endometriozy głęboko naciekającej „Dalla teoria alla pratica: gestione della donna nell’ambulatorio della contraccezione e dell’endometriosi” (Bologna, Włochy)
- 13-14.03.2016 - Udział w kursie „Early diagnosis of fetal anomalies” (London, England)
- 03-04.06.2016 - Udział w kursie „Ultrasound in the diagnosis and management of endometriosis” (London, England)
- 04.11.2016 - Udział w Kursie „ISUOG Intensive Course: Ultrasound plus: facial cleft and facial dysmorphology: from prenatal diagnosis to postnatal management” (London, England)
- 04-05.11.2016 - Udział w kursie „Ultrasound and Biomarkers: A new era in identifying complications of pregnancy” and „Clinical applications of 3D/4D in Obstetrics: Tips & Tricks” (London, England)
- 24.01.2017 – Udział w Kursie „ISUOG and SMFM Educational Course – Ultrasound and biomarkers: a new era in identifying complications of pregnancy” (London, England)
- 01-02.04.2017 - Udział w kursie „Ultrasound in Multiple pregnancy” (London, England)
- 09-13.04.2018 - Udział w Kursie „Advanced Course in Gynecological Ultrasound Organised by Ultrasound Unit in Women’s Clinic Skanes University Hospital” - International Ovarian Tumor Analysis (IOTA) (Malmö, Szwecja)

Udział w kursach i konferencjach krajowych:

- 15.12.2012 - Udział w kursie szkoleniowym z zakresu ultrasonografii "Kurs do Certyfikatu Badań Prenatalnych Sekcji USG PTG" (Poznań, Polska)
- 7.02.2013 - Udział w kursie szkoleniowym z zakresu ultrasonografii "Diagnostyka Ultrasonograficzna wad rozwojowych płodu. Podstawy badania USG gruczołu piersiowego" (Poznań, Polska)
- 8.02.2013 - Udział w kursie szkoleniowym z zakresu ultrasonografii "Kurs do Certyfikatu Badań Dopplerowskich Sekcji USG PTG" (Poznań, Polska)
- 21-22.06.2013 – Udział w Sympozjum „Co nowego w endometriozie i ginekologii operacyjnej” (Łódź, Polska)

- 27.09.2013 - Udział w kursie szkoleniowym z zakresu ultrasonografii „Diagnostyka ultrasonograficzna wad rozwojowych płodu” (Poznań, Polska)
- 28.09.2013 - Udział w kursie szkoleniowym z zakresu ultrasonografii „Kurs do Certyfikatu Badań Prenatalnych Sekcji USG PTG” (Poznań, Polska)
- 13.12.2013 - Udział w kursie szkoleniowym z zakresu ultrasonografii „Diagnostyka ultrasonograficzna w niepłodności, onkologii ginekologicznej i uroginekologii. Diagnostyka ultrasonograficzna gruczołu piersiowego” (Poznań, Polska)
- 20.02.2014 – Udział w „Ultrasonograficznych warsztatach praktycznych” (Poznań, Polska)
- 21.02.2014 - Udział w kursie szkoleniowym z zakresu ultrasonografii „Kurs do Certyfikatu Badań Dopplerowskich Sekcji USG PTG” (Poznań, Polska)
- 22.02.2014 - Udział w kursie szkoleniowym z zakresu ultrasonografii „Kurs do Certyfikatu Podstawowego Sekcji USG PTG” (Poznań, Polska)
- 04.03.2014 - Udział w kursie szkoleniowym z zakresu ultrasonografii „Kurs do Certyfikatu oceny serca płodu Sekcji USG PTG” (Poznań, Polska)
- 03.04.2014 – Udział w „Ultrasonograficznych warsztatach praktycznych” (Poznań, Polska)
- 05.04.2014 - Udział w kursie szkoleniowym z zakresu ultrasonografii „Kurs do Certyfikatu Badań Prenatalnych Sekcji USG PTG” (Poznań, Polska)
- 11.09.2014 – Udział w „Ultrasonograficznych warsztatach praktycznych”(Poznań, Polska)
- 12.09.2014 - Udział w kursie szkoleniowym z zakresu ultrasonografii „Kurs do Certyfikatu Podstawowego Sekcji USG PTG” (Poznań, Polska)
- 21-22.11.2014 – Udział w Konferencji 25-lecia Centrum Zdrowia Matki Polki (Łódź, Polska)
- 27.11.2014 - Udział w „Ultrasonograficznych warsztatach praktycznych” (Poznań, Polska)
- 28.11.2014 - Udział w kursie szkoleniowym z zakresu ultrasonografii „Diagnostyka ultrasonograficzna niepłodności, onkologii ginekologicznej i uroginekologii” (Poznań, Polska)
- 29.11.2014 - Udział w kursie szkoleniowym z zakresu ultrasonografii „Kurs do Certyfikatu Badań Dopplerowskich Sekcji USG PTG” (Poznań, Polska)
- 05.02.2015 – Udział w „Ultrasonograficznych warsztatach praktycznych” (Poznań, Polska)

- 06.02.2015 - Udział w kursie szkoleniowym z zakresu ultrasonografii „Diagnostyka dopplerowska w położnictwie i ginekologii (badania skryningowe i ocena dobrostanu płodu) (Poznań, Polska)
- 07.02.2015 - Udział w kursie szkoleniowym z zakresu ultrasonografii „Diagnostyka ultrasonograficzna wad rozwojowych i porodu przedwczesnego” (Poznań, Polska)
- 18.04.2015 – Udział w konferencji „Talk Show Praktyków Położnictwa i Ginekologii” (Łódź, Polska)
- 24.04.2015 – Udział w konferencji z zakresu ultrasonografii „Prenatalna diagnostyka ultrasonograficzna wad serca” (Poznań, Polska)
- 25.04.2015 – Udział w konferencji z zakresu ultrasonografii „Badania prenatalne w I i II trymestrze ciąży” (Poznań, Polska)
- 14.05.2015 – Udział w kursie szkoleniowym „Ultrasonografia Ginekologiczna” (Toruń, Polska)
- 15-16.05.2015 – Udział w „ISUOG Intensive Course: Ultrasound and Clinical Decisions” (Toruń, Polska)
- 10.09.2015 - Udział w „Ultrasonograficznych warsztatach praktycznych” (Poznań, Polska)
- 11.09.2015 – Udział w Konferencji „Diagnostyka ultrasonograficzna wad rozwojowych i ocena DNA płodowego w krwiobiegu matki. Standardy badań ultrasonograficznych w I i II trymestrze ciąży w 2015 r.” (Poznań, Polska)
- 27.11.2015 - Udział w kursie szkoleniowym z zakresu ultrasonografii „Diagnostyka ultrasonograficzna niepłodności, onkologii ginekologicznej i uroginekologii” (Poznań, Polska)
- 28.11.2015 - Udział w kursie szkoleniowym z zakresu ultrasonografii „Diagnostyka dopplerowska w położnictwie i ginekologii (badania skryningowe i ocena dobrostanu płodu) (Poznań, Polska)
- 18-20.02.2016 – Udział w Kursie „Kardiologia Prenatalna i Badanie Dopplerowskie” (Warszawa, Polska)
- 18-20.02.2016 - Udział w „AEPC Teaching Course: Fetal cardiology – why is it important for perinatal care” (Warszawa, Polska)
- 23-24.05.2017 - Udział w Kursie „Operacje Laparoskopowe” (Łódź, Polska)
- 08-09.12.2017 - Udział w Sympozjum „6th International Symposium on Venous Interventions – Focus on Pelvic Congestion Syndrome and Varicose Veins of Pelvic Origin” (Kraków, Polska)

- 09.06.2018 - Udział w „II Ogólnopolskiej Konferencji Sekcji Echokardiografii i Kardiologii Prenatalnej Polskiego Towarzystwa Ultrasonograficznego” (Warszawa, Polska)
- 13-15.09.2018 - Udział w „XXXIII Kongresie Naukowym Polskiego Towarzystwa Ginekologów i Położników – Zdrowa kobieta naszym celem i przyszłością” (Warszawa, Polska)
- 19-20.10.2018 – Udział w Konferencji „Elastografia – Jaka, Kiedy, Dlaczego ? Przegląd Technologii i Zastosowań Klinicznych” (Kazimierz Dolny, Polska)
- 29-30.03.2019 - Udział w „II Konferencji Edukacyjnej Polskiego Towarzystwa Ginekologów i Położników” (Kielce, Polska)
- 29-30.03.2019 - Udział w Warsztatach „Laparoskopia w Ginekologii, Ginekologia małoinwazyjna – transmisja na żywo z Bloku Operacyjnego - II Konferencji Edukacyjnej Polskiego Towarzystwa Ginekologów i Położników” (Kielce, Polska)
- 23-25.09.2021 - Udział w „XXXIV Kongresie Polskiego Towarzystwa Ginekologów i Położników” (Wrocław, Polska)
- 23-25.02.2023 - Udział w „XI Spotkaniu Ginekologów i Położników” (Toruń, Polska)
- 13-14.04.2023 - Udział w kursie „Ekspercki Kurs Badań Prenatalnych” (Wrocław, Polska)

Znajomość języków obcych:

- angielski - Certyfikat in Advanced English (CAE)
- niemiecki

.....
(podpis wnioskodawcy)