

1. STRESZCZENIE

Zespół policystycznych jajników (PCOS) jest jednym z najbardziej zróżnicowanych zespołów endokrynologicznych u kobiet, jednak jego etiologia i mechanizmy patogenetyczne wciąż pozostają niejasne. Szacuje się, że zespół PCOS występuje z częstotliwością 10-20% i jest to najczęściej występująca endokrynopatia u kobiet w wieku reprodukcyjnym. Główne konsekwencje wystąpienia tego schorzenia to zaburzenie funkcji endokrynologiczno - metabolicznych i przede wszystkim funkcji rozrodczych. Choroba nieleczona może prowadzić do poważnych konsekwencji zdrowotnych, takich jak niepłodność, cukrzyca, rak endometrium, choroby serca i nadciśnienie tętnicze. Obowiązującymi kryteriami rozpoznania PCOS są tzw. kryteria rotterdamskie (*Rotterdam ESHRE 2003*). Na obecnym etapie wiedzy, za główną przyczynę PCOS uważa się nadmierne wytwarzanie androgenów. Defekty enzymatyczne na szlakach steroidogenezy, odpowiedzialne za złożone zaburzenia hormonalne, manifestują się często hiperandrogenizmem, dlatego zespół PCOS jest diagnozowany przez wykluczenie innych chorób endokrynologicznych, dających podobne objawy. W różnicowaniu należy uwzględnić możliwość wystąpienia zespołu Cushinga oraz wrodzonego przerostu kory nadnerczy.

Niespójne kryteria diagnostyczne, brak charakterystycznych biomarkerów chemicznych, rozpoznanie przez wykluczenie wydłuża proces diagnostyczny i ogranicza możliwość szybkiej interwencji terapeutycznej. Do badań dotychczas diagnozujących PCOS należą badania biochemiczne w surowicy krwi: testosteron (T), androstendion (A), hormon luteotropowy (LH), hormon folikulotropowy (FSH), badanie ultrasonograficzne jajników (USG) oraz wywiad lekarski na temat objawów klinicznych. Alternatywną techniką analityczną, wykorzystującą chromatografię gazową (GC) jest analiza profilowa steroidów w moczu. Analiza ta obejmuje szereg metabolitów tworzących charakterystyczny obraz chromatograficzny, który odzwierciedla fizjologiczny stan organizmu, specyficzne zaburzenia syntezy lub metabolizmu hormonów steroidowych.

Głównym celem rozprawy doktorskiej było poszukiwanie nowych, specyficznych biomarkerów chemicznych mogących mieć zastosowanie w diagnostyce PCOS. Cel został zrealizowany przez analizę porównawczą, metabolomiczną i bioinformatyczną profilu steroidowego w moczu kobiet zdrowych i pacjentek z PCOS metodą chromatografii gazowej sprzężonej ze spektrometrią masową (GC-MS).

Grupę kontrolną (Gr. 1) stanowiło 150 zdrowych kobiet w wieku od 16 do 35 lat bez cech zaburzeń ginekologiczno – endokrynologicznych, niestosujących antykoncepcji. Grupę badaną (Gr. 2) zrekrutowano spośród pacjentek Kliniki Endokrynologii i Diabetologii IPCZD oraz z Kliniki Endokrynologii Ginekologicznej WUM z rozpoznaniem zespołem policystycznych jajników według obecnie przyjętych kryteriów diagnostycznych (Rotterdam ESHRE 2003, AES 2006 i NIH 1990). Grupę badaną (Gr. 2) stanowiło 76 pacjentek w wieku od 16 do 35 lat. Kryteriami wykluczenia było przyjmowanie leków hormonalnych, nieodpowiednia faza cyklu, ciąża, brak pisemnej zgody na wykonanie badania oraz źle pobrany i/lub źle przechowywany materiał biologiczny. Do analizy profilu steroidowego stosowane były próbki moczu (50ml) pochodzące z 24- godzinnej dobowej zbiórki moczu (DZM), dające pełny obraz profilu hormonalnego.

Wykorzystując otrzymane wyniki przeprowadzono analizę danych w celu porównania parametrów składowych profili steroidowych pacjentek z zespołem PCOS i zdrowych kobiet. W pierwszym etapie rozprawy opracowano wartości referencyjne poszczególnych metabolitów steroidowych oznaczanych w profilu steroidowym w moczu dla kobiet w wieku 16 – 35 lat. Wartości punktów odniesienia przedstawione w pracy doktorskiej zostały wygenerowane na podstawie licznej grupy kobiet (150 osób) ściśle spełniających warunki włączenia. Następnie w ramach pracy doktorskiej przeprowadzono analizy porównawcze profilu steroidowego w moczu u kobiet zdrowych oraz cierpiących na zespół PCOS.

Celem tego etapu było zidentyfikowanie charakterystycznego wzorca, układu związków chemicznych specyficznych dla PCOS. Zastosowana strategia analityczno-bioinformatyczna, wykorzystana w tych badaniach, potwierdziła przydatność profilu steroidowego, jako narzędzia poszukiwania chemicznych biomarkerów dla tego schorzenia. Wyniki osiągnięte w ramach niniejszej rozprawy doktorskiej jednoznacznie wskazały, że zespół policystycznych jajników wpływa na zmiany w wydalaniu metabolitów steroidowych u kobiet z PCOS. W trakcie badań nad próbkami moczu kobiet z zespołem PCOS, wykorzystując techniki analizy instrumentalnej wraz z uwzględnieniem analizy struktur molekularnych, dokonano identyfikacji 38 związków hormonalnych. Poprzez wykorzystanie analizy bioinformatycznej, dokonano selekcji metabolitów steroidowych, których poziomy korelowały z występowaniem zespołu policystycznych jajników. Stosując krokową analizę dyskryminacji, wyselekcjonowano zmienne będące

predyktorami zespołu PCOS. Wykazano, że różnice istotne statystycznie dotyczyły 10 z 38 zidentyfikowanych związków chemicznych. Główne parametry różnicujące w analizie profilowej to 5AND, 16-OHDHA, 5PT' i PT. Przeprowadzone analizy klasyfikacyjne wykazały, że opracowany model predykcyjny skutecznie rozpoznaje przynależność do grupy kontrolnej z dokładnością wynoszącą 100%, natomiast w przypadku PCOS prawidłowo różnicuje 93,4% chorych. Opracowany model predykcyjny poprawnie klasyfikuje 97,8% przypadków różnicując pacjentki z PCOS niezależnie od fenotypu.

Zastosowanie analizy profilu steroidów w moczu w diagnostyce zespołu PCOS na poziomie biochemicznym, umożliwi odejście od stosowanej obecnie praktyki rozpoznania przez wykluczenie, ułatwi proces diagnostyczny, co w konsekwencji przyspieszy wprowadzenie odpowiednich procedur terapeutycznych.