

dr hab. Sabina Górską
Laboratorium Immunobiologii Mikrobiomu
Instytut Immunologii i Terapii Doświadczalnej im. L. Hirsfelda
Polska Akademia Nauk
Weigla 12, 53-114 Wrocław

Wrocław, 29.03.2025

Recenzja rozprawy doktorskiej mgr Olgi Kuźmycz pt.:

“Udział mikrobioty w nasilaniu zmian pronowotworowych w obrębie ludzkiego endometrium oraz potencjał nowych pochodnych niesterydowych leków przeciwzapalnych w zapobieganiu tym procesom.”

Praca została wykonana pod kierunkiem dr hab. Pawła Stączka,
w Katedrze Mikrobiologii Molekularnej na Wydziale Biologii i Ochrony
Środowiska Uniwersytetu Łódzkiego.

Strona formalna rozprawy.

Przedstawiona do recenzji rozprawa składa się z trzech wieloautorskich artykułów, w tym jednej przeglądowej opublikowanej w Cancer Biology & Therapy, jednej oryginalnej opublikowanej w International Journal of Molecular Science, jednej pracy przesłanej do recenzji we Frontiers in Cellular and Infection Microbiology, która na dzień przygotowania przeze mnie recenzji tj. 29.03.2025 roku została już opublikowana. Całość została uzupełniona o wyniki, które nie zostały jeszcze opracowane w formie publikacji. We wszystkich pracach Doktorantka jest pierwszym autorem co wskazuje na jej wiodącą rolę w ich powstaniu. Potwierdzają to również oświadczenia Doktorantki oraz pozostałych współautorów, które zostały umieszczone na końcu rozprawy.

Dokumentacja pracy doktorskiej składa się z następujących rozdziałów: **Źródła finansowania badań prowadzonych w ramach rozprawy doktorskiej, Współpraca, Wstęp**, w którym Doktorantka wprowadza czytelnika w tematykę swoich badań. Po nim następuje **Cel rozprawy doktorskiej**, który jest jasno sformułowany. Następnie Doktorantka omówia dane



zamieszczone w trzech manuskryptach oraz przedstawia materiały, metody oraz wyniki dotyczące danych nieopublikowanych. Sekcje **Dyskusja, Podsumowanie oraz Wnioski** zawierają zwięzłe i rzeczowe podsumowanie zrealizowanych prac badawczych i najważniejsze osiągnięcia przedstawionej do oceny rozprawy doktorskiej. Rozprawę kończą **Streszczenie w języku polskim i angielskim, Dorobek naukowy, Kopie publikacji, Oświadczenia współautorów** oraz zestawienie **Literatury** użytej do przygotowanie rozprawy doktorskiej. Układ pracy jest czytelny i spójny, jasno prowadzi czytelnika przez przedłożoną do oceny rozprawę. Język pracy jest zrozumiały a szata graficzna jest estetyczna. W pracy znajdują się rysunki, które są odpowiednio opisane.

Ocena merytoryczna rozprawy.

Rozprawa doktorska miała na celu określenie wpływu wybranych mikroorganizmów na zmiany w obrębie ludzkich komórek endometrium oraz na określeniu aktywności biologicznej nowosyntezowanych renowych pochodnych niesterydowych leków przeciwzapalnych wobec komórek nowotworowych endometrium. Uważam, że tematyka pracy jest interesująca ponieważ dopiero odkrywamy znaczenie mikroorganizmów w utrzymaniu odpowiedniej homeostazy dróg rodnych, nie wiele wiemy na temat oddziaływania tych organizmów z ludzkimi komórkami endometrium, zarówno w warunkach fizjologicznych, jak i patologicznych. Dalsze badania w tym obszarze mogą przyczynić się do lepszego zrozumienia mechanizmów regulujących funkcjonowanie układu rozrodczego oraz opracowanie nowych strategii terapeutycznych.

Cel naukowy rozprawy doktorskiej został jasno przedstawiony. Był on realizowany w oparciu o pięć celi szczegółowych z wykorzystaniem odpowiednich metod badawczych i statystycznych.

W części oceny formalnej rozprawy doktorskiej wskazałam, że rozprawa ta została przygotowana w formie cyklu trzech opublikowanych artykułów naukowych. Taka struktura teoretycznie ułatwia recenzję, ponieważ każda z publikacji została poddana już wnikliwej ocenie rezydentów wyznaczonych przez redakcje czasopism. Niemniej jednak jako recenzent skupię się na ocenie spójności merytorycznej przedstawionych do oceny publikacji oraz analizie wyników nieopublikowanych, ich wpływu na rozwój dziedziny oraz oryginalności podjętych przez Doktorantkę badań.

Pierwsza praca otwierająca cykl artykułów jest pracą przeglądową wprowadzającą w tematykę rozprawy doktorskiej. Poczynając od opisu molekularnych podstaw inicjacji i



progresji raka endometrium, Doktorantka zapoznaje czytelnika z potencjalnymi celami terapeutycznymi i prewencyjnymi tej choroby. Dalej koncentruje się nad możliwością użycia niesteroidowych leków przeciwzapalnych (NLPZ) jako leków o charakterze przeciwnowotworowym oraz wpływu tych leków na mikrobiotę macicy. Publikacja zawiera również informacje dotyczące patogennych bakterii wywołujących stanu zapalne macicy i ich potencjalnego udziału w progresji rozwoju raka endometrium. Praca ta stanowi zwięzłe, ale dokładne omówienie poruszanych w rozprawie doktorskiej zagadnień i pozwala czytelnikowi na zapoznanie się problemem, będącym przedmiotem ocenianej rozprawy doktorskiej. Na podkreślenie zasługuje ilość literatury jaką wykorzystała do przygotowania tej pracy (100 pozycji) oraz jej aktualność (większość z ostatnich 10 lat).

Przedmiotem drugiej publikacji naukowej jest ocena aktywności wybranych NLPZ (naproksen, aspiryna, ibuprofen, indometacyna) oraz ich renowych pochodnych wobec komórek nowotworowych HeLa, L929, Ishikawa oraz HEC-A a także selektywności otrzymanych związków względem enzymów COX-1 i COX-2. Uzyskane przez nią wyniki wskazują na wysoki potencjał renowych pochodnych jako cząsteczek możliwych do użycia w prewencji raka endometrium, niemniej jednak jak sama Doktorantka wskazuje niezbędne jest przeprowadzenie bardziej szczegółowej i wnikliwej analizy ich właściwości biologicznych. W tym miejscu chciałabym poprosić Doktorantkę o podanie informacji czy *zostało przygotowane zgłoszenie patentowe dotyczące możliwości wykorzystania badanych przez nią związków w prewencji/leczeniu raka trzonu macicy? Prosiłabym również o przedstawienie opinii Doktorantki w zakresie możliwości stosowanie NLPZ z lekami nowotworowymi stosowanymi w leczeniu raka trzonu macicy oraz przedstawienie jak NLPZ mogą wpływać na ich skuteczność terapeutyczną, mechanizm działania. Czy są znane inne rozwiązania terapeutyczne ukierunkowane na aktywność COX-1/COX-2?*

W trzeciej publikacji Doktorantka dokonała wstępnej charakterystyki mikrobioty uzyskanej z wymazów dystalnej części kanału szyjki macicy uzyskanych od 29 pacjentek z nowotworem endometrium lub mięśniakiem macicy. Uzyskane przez Doktorantkę wyniki pokrywają się z dotychczasową wiedzą wskazującą na dominującą obecność bakterii z rodzaju *Lactobacillus* ale również wskazują na możliwość wykorzystania bakterii z rodzaju *Anaerococcus* jako taksonu różnicującego grupę pacjentek z nowotworem endometrium a mięśniakiem macicy. Doktorantka przeprowadziła dodatkowe testy mające na celu określenie zdolności tych bakterii do adhezji ludzkich fibroblastów macicy oraz indukcji wytwarzania



reaktywnych form tlenu. W tym miejscu chciałabym poprosić Doktorantkę o przedstawienie jej opinii dotyczącej dysbiozy obserwowanej u pacjentek ze zmianami patologicznymi w obrębie macicy. *Czy dysbioza może być przyczyną obserwowanych zmian patologicznych u pacjentek czy być może to właśnie zmiany chorobowe wpływają na zmianę w składzie mikrobioty? Czy podjęto się próby uzyskania szczepu Anaerococcus od pacjentek z rakiem endometrium i scharakteryzowania go zamiast szczepu wzorcowego pozyskanego z kolekcji mikroorganizmów? Uważam, że wartościowe byłoby również oznaczenie wpływu badanego szczepu na poziom COX-2. Mogłoby to być przydatne w pełniejszej charakterystyce roli tych bakterii w rozwoju raka endometrium. Zastanawiam się, czy takie analizy były może wykonane? Moje duże zastrzeżenia budzi liczba pacjentek – Doktorantka zbadała próbki uzyskane jedynie od 29 pacjentek, które jeszcze zostały podzielona na dwie grupy. W takim przypadku możemy jedynie mówić o obserwacjach pewnych zjawisk ale nie możemy mówić o korelacji. Jaka była siła testu statystycznego na tak małej grupie?*

Ostatnią część rozprawy doktorskiej stanowią wyniki nieopublikowane w formie publikacji. Doktorantka skupiła się na ocenie aktywności biologicznej bakterii z rodzaju *Gardnerella vaginalis*, który często opisywane są w literaturze jako bakterie biorące udział w rozwoju stanów zapalnych dróg rodnych. Doktorantka wykryła obecność bakterii z tego rodzaju również w swoich próbkach pozyskanych od pacjentek z nowotworem endometrium oraz mięśniakami macicy. Analizę aktywności biologicznej względem ludzkich linii komórek nowotworowych Ishikawa oraz HEC-1A a także ludzkich fibroblastów HUF przeprowadziła z wykorzystaniem wzorcowych szczepów pochodzących z kolekcji mikroorganizmów. Tutaj pojawia się moje pytanie: *Dlaczego analizy nie wykonano na szczepach uzyskanych z wymazów?*

W ramach prowadzonych badań naukowych Doktorantka określiła współczynnik zakażenia tzw. MOI, oceniła stopień adhezji bakterii do badanych linii komórkowych, wykonała test aktywności protekcyjnej z wykorzystaniem szczepu bakterii z rodzaju *Lactobacillus jensenii* względem infekcji *G. vaginalis*. Następnie oceniła poziom reaktywnych form tlenu produkowanych przez badane linie komórkowe w odpowiedzi na stymulację testowanymi bakteriami, dokonała oceny zmian aktywności mitochondriów, tempa oraz zmiany tempa podziałów komórkowych oraz analizę stężenia wybranych cytokin/chemokin. Tutaj chciałabym zadać pytanie Doktorantce *dlaczego w teście aktywności protekcyjnej L. jensenii (strona 29)*



użyto tych bakterii w stosunku 10 MOI, pomimo, iż w testach dotyczących optymalizacji tego współczynnika, wyszło Doktorantce, że wystarczy użyć 0.5 MOI?

Sposób przeprowadzenia **Dyskusji** oraz forma przedstawienia **Wniosków** pokazuje, że Doktorantka bez wątplenia posiada odpowiednią wiedzę oraz umiejętności wyciągania krytycznych wniosków. Chciałabym w tym miejscu podkreślić, że pomimo, iż jej wyniki są w mojej opinii jedynie obserwacjami (ze względu na małą grupę badaną) to są one niezmiernie interesujące i co istotne pozwalające na zadawanie kolejnych pytań, w tym określenia możliwość wykorzystania bakterii z rodzaju *Anaerococcus* oraz *Gardnerella* jako potencjalnych marketów rozwoju raka endometrium.

Podsumowanie.

Przedłożona do oceny rozprawa doktorska mgr Olgi Kuźmich jest ciekawym, oryginalnym opracowaniem na temat udziału bakterii tworzących mikrobiotę w obrębie endometrium oraz możliwości wykorzystania renowych pochodnych niesterydowych leków przeciwzapalnych w zapobieganiu rozwoju raka endometrium. Problematyka badań przedstawionych w publikacjach oryginalnych została oparta na dogłębnej znajomości tematyki, co potwierdza opublikowanie przez Doktorantkę bardzo dobrej pracy przeglądowej. Tworzą one spójny tematycznie cykl artykułów naukowych, które wnoszą istotny wkład w rozwój dziedziny. Doktorantka wykazuje się obszerną wiedzą, umiejętnością analizy danych literaturowych oraz zdolnością do krytycznej oceny uzyskanych wyników. Wymienione w recenzji uwagi i komentarze mają raczej charakter wyjaśnienia pewnych kwestii, wynikających z ciekawości recenzenta, i w żaden sposób nie obniżają wartości naukowej rozprawy doktorskiej.

Podsumowując, stwierdzam, że przedłożona do recenzji rozprawa doktorska spełnia warunki określone w art. 187 ust. Ustawy z 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz.U. 2018 poz. 1668 z późn. zm.). W związku z powyższym, zwracam się do Komisji Uniwersytetu Łódzkiego do spraw stopni naukowych w dyscyplinie nauki biologiczne o dopuszczenie mgr Olgi Kuźmich do dalszych etapów postępowania doktorskiego w dyscyplinie nauki biologiczne.