

Szczecin, 21.04.2025

### **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*”, którą wykonała pod kierunkiem Pana dr hab. Pawła Stączka, prof. UŁ w Katedrze Mikrobiologii Molekularnej Instytutu Mikrobiologii, Biotechnologii i Immunologii Wydziału Biologii i Ochrony Środowiska Uniwersytetu Łódzkiego. Recenzja została wykonana na zlecenie Komisji Uniwersytetu Łódzkiego do spraw stopni naukowych w dyscyplinie nauki biologiczne zgodnie z pismem z dnia 4.02.2025 r. podpisanym przez Przewodniczącą tej Komisji – Prof. dr hab. Agnieszkę Marczak**

#### **I. Ogólna ocena układu rozprawy doktorskiej**

Rozprawa doktorska mgr Olgi Kuźmycz jest przygotowana w formie hybrydowej i składa się z 3 publikacji naukowych – w tym jednej przeglądowej i dwóch prac oryginalnych (nadmieniam, że w przygotowanej rozprawie jedna z prac oryginalnych była przyjęta do recenzji, a na chwilę sporządzania recenzji jest już opublikowana) oraz części opisowej, w której Autorka opisuje wyniki jeszcze nieopracowane w formie publikacji.

Odnosząc się do części rozprawy złożonej z publikacji stwierdzam, że we wszystkich pracach stanowiących podstawę rozprawy doktorskiej, Pani mgr Olga Kuźmycz jest pierwszą Autorką, pracę przeglądową współtworzyła jedynie z Promotorem, natomiast w pracach oryginalnych występuje jako jedna z 3 [P2] i z 8 [P3] autorów. Udział Pani mgr Olgi Kuźmycz

1

dr hab. Paulina Niedźwiedzka-Rystwej, prof. US  
ul. Wacława Felczaka 3c, 71-412 Szczecin  
[paulina.niedzwiedzka-rystwej@usz.edu.pl](mailto:paulina.niedzwiedzka-rystwej@usz.edu.pl)

91 444 15 93  
[immuno.usz.edu.pl](mailto:immuno.usz.edu.pl)

został potwierdzony stosownymi oświadczeniami wszystkich współautorów. Prace zostały opublikowane w czasopismach z listy JCR, będących szanowanymi i uznanymi w dyscyplinie pismami naukowymi. Poniżej przedstawiam wykaz prac z danymi bibliometrycznymi i udziałem Doktorantki zgodnie z załączonymi oświadczeniami:

1. **Kuźmycz O.**, Stączek P.: Prospects of NSAIDs administration as a double-edged agents against endometrium cancer and pathological species of the uterine microbiome. *Cancer Biol Ther* 2020; 21(6): 486-494 (IF<sub>2023</sub> 4,4; punkty MEiN 100)

Zgodnie z załączonymi oświadczeniami, Doktorantka opracowała koncepcję pracy, zebrała literaturę i przygotowała tekst manuskryptu.

2. **Kuźmycz O.**, Kowalczyk A., Stączek P.: Biological activity of fac-[Re(CO)<sub>3</sub>(phen)(aspirin)], fac-[Re(CO)<sub>3</sub>(phen)(indomethacin)] and their original counterparts against Ishikawa and HEC-1A endometrial cancer cells. *Int J Mol Sci* 2022; 23(19): 11568 (IF<sub>2023</sub> 4,9, punkty MEiN 140)

W tej pracy Pani mgr Olga Kuźmycz współtworzyła plan i koncepcję badań, wykonała doświadczenia laboratoryjne. Ponadto analizowała i interpretowała wyniki, przygotowywała manuskrypt i uczestniczyła w pracach nad odpowiedziami dla recenzentów.

3. **Kuźmycz O.**, Kowalczyk A., Bolanowska A., Drodżowska A., Lach J., Wierzbńska W., Kluz T., Stączek P.: A comprehensive analysis of the uterine microbiome in endometrial cancer patients identification of *Anaerococcus* as a

potential biomarker and carcinogenic cofactor. Front. Cell. Infect. Microbiol. 2025; 15:1511625. doi: 10.3389/fcimb.2025.1511625 (IF<sub>2023</sub> 4,6, punkty MEiN 100).

Pani mgr Olga Kuźmycz współtworzyła plan i koncepcję badań, przygotowała oryginalną wersję manuskryptu, interpretowała i analizowała statystycznie wyniki oraz zarządzała projektem, z którego finansowano badania.

Moje uwagi do tej części pracy są następujące:

- W oświadczeniach dotyczących udziału współautorów w tworzeniu publikacji, oprócz opisu ich merytorycznego wkładu, pojawiają się również informacje o procentowym udziale w pracy. Praktyka ta jest nieuzasadniona, ponieważ nie istnieje wiarygodna metodologia pozwalająca na dokładne i obiektywne określenie takiego udziału. W wielu przypadkach prowadzi to raczej do nieporozumień niż do rzetelnego odzwierciedlenia zaangażowania poszczególnych autorów, zwłaszcza w pracach zespołowych lub interdyscyplinarnych. Dlatego w mojej ocenie należy unikać wskazywania procentowego podziału pracy przy publikacjach naukowych.
- Jednocześnie w tychże oświadczeniach zadania Doktorantki są opisane bardzo lakonicznie – zamiast zawierać procenty (które – jak powszechnie wiadomo – tylko matematycznie, a nie merytorycznie sumują się do 100%). W mojej ocenie Doktorantka powinna wyraźnie i szczegółowo opisać także swoje role stricte badawcze w publikacjach.
- Nie do końca rozumiem, jakiego klucza używała Doktorantka podając dane bibliometryczne (IF) z 2023 roku – skoro prace powstawały w różnych latach, a doktorat

w 2024 r., natomiast zaznaczam, że wartości bibliometryczne prac, choć wysokie, nie mają znaczenia przy ocenie doktoratu.

Odnosząc się natomiast do pozostałej części pracy, tj. opisu nieopublikowanych wyników badań, należy docenić, że są one opisane w formie typowej rozprawy doktorskiej z teoretycznym wstępem, opisem materiału i metod, wyników oraz dyskusji, a także odpowiednio dobranego piśmiennictwa, jest więc to niemalże gotowy materiał na publikację.

Chciałabym także zaznaczyć, że nadprogramowo, ale z wielką korzyścią dla czytelnika, Autorka zamieściła także dane dotyczące swojego dorobku naukowego, który składa się z 4 publikacji, 1 prezentacji ustnej i 5 posterowych na konferencjach, a także 2-miesięcznego stażu w Uniwersytecie Medycznym w Graz (Austria) oraz ukończonego szkolenia z Pythona.

## II. Ocena celu pracy

Warto zaznaczyć, że zarówno prace wchodzące w skład rozprawy doktorskiej Pani mgr Olgi Kuźmycz, jak i część opisowa wyników nieopublikowanych poruszają niezwykle istotny naukowo, diagnostycznie i klinicznie temat badawczy. Autorka bowiem koncentruje się na głębszym zrozumieniu udziału mikrobioty w nasilaniu zmian pronowotworowych w obrębie ludzkiego endometrium, a także podjęła się oceny potencjału nowych niesterydowych leków przeciwzapalnych w zapobieganiu tym procesom. W mojej ocenie wybór takiego tematu jest niezwykle celny i uzasadniony, doskonale nie tylko wypełnia lukę badawczą, ale także pozostaje w linii z aktualnymi trendami badawczymi. Poszukiwanie rozwiązań diagnostycznych i badawczych w stosunku do jednego najczęściej atakujących kobiety w Polsce nowotworu jest koniecznością. Natomiast zwrot w kierunku oceny roli mikrobioty w tej chorobie jest uzasadnionym i ciekawym elementem tej pracy, jako że stwierdzono, że nawet 15% nowotworów może mieć podłoże mikrobiologiczne. Niesterydowe leki przeciwzapalne

(NLPZ) wykazują działanie hamujące wzrost niektórych bakterii, a zatem także mogą działać na mikrobiotę, co w sposób pełny pokazuje uzasadnienie celu badań Pani mgr Olgi Kuźmycz.

Jak sama Doktorantka pisze w rozprawie, celem rozprawy było określenie wpływu wybranych drobnoustrojów na zmiany w obrębie ludzkich komórek endometrium oraz ocena aktywności biologicznej nowosyntetyzowanych renowych pochodnych niesterydowych leków przeciwzapalnych (NLPZ) wobec komórek nowotworowych endometrium. Autorka, by zrealizować tak postawiony cel, postawiła szereg celów szczegółowych, które zrealizowane były w poszczególnych etapach stanowiących części rozprawy doktorskiej (zarówno publikacyjne, jak i w postaci wyników nieopublikowanych). Szkoda, że pokazując te cele, nie przypisała im efektów w postaci publikacji już opublikowanych, ale to jedynie uwaga organizacyjna, nie wpływająca na odbiór tej części pracy. I tak cele te to:

1. Analiza danych literaturowych tematyki związanej z przedmiotem badań;
2. Analiza aktywności przeciwnowotworowej nowosyntetyzowanych renowych pochodnych NLPZ wobec komórek raka endometrium;
3. Sekwencjonowanie materiału biologicznego;
4. Wstępna analiza wirulencji szczepu *Anaerococcus vaginalis* wobec komórek prawidłowych endometrium;
5. Ocena wirulencji patogennego szczepu dróg rodnych kobiet *Gardnerella vaginalis* wobec komórek linii ludzkiego raka endometrium oraz komórek prawidłowych endometrium.

Stwierdzam, że wszystkie wyniki przedstawione w rozprawie doktorskiej mgr Olgi Kuźmycz realizowały założony cel, wypełniając jednocześnie lukę badawczą w tym zakresie, a nawet znacznie przewyższając ją swoją jakością. Warto podkreślić, że rezultaty tych badań są nie tylko rozwiązaniem problemu badawczego, ale także wskazują potencjalną drogę rozwiązań praktycznych w kontekście patogenez, diagnostyki i prewencji choroby

nowotworowej, jaką jest rak endometrium. Opublikowane prace cechują się wysoką jakością naukową i są opublikowane w cenionych periodykach naukowych. Ponadto postawiony problem badawczy został rozwiązany wielowymiarowo, z wykorzystaniem szeregu metod badawczych, co potwierdza szeroką wiedzę mgr Olgi Kuźmycz w temacie i dobre merytoryczne i metodyczne przygotowanie Doktorantki do pracy naukowej.

### III. Ocena merytoryczna pracy z omówieniem poszczególnych prac składających się na rozprawę doktorską

**Praca 1:** *Kuźmycz O., Stączek P.: Prospects of NSAIDs administration as a double-edged agents against endometrium cancer and pathological species of the uterine microbiome. Cancer Biol Ther 2020; 21(6): 486-494*

Cykl rozpoczyna praca przeglądowa stanowiąca kompletne i rzetelne podsumowanie informacji literaturowych na temat roli NLPZ w leczeniu nowotworu endometrium i wpływu tych leków na patogenne gatunki mikrobioty macicy. W publikacji zwrócono uwagę na obusieczną rolę tych leków, jako że nadekspresja COX-2 hamowana przez NLPZ może wpływać na angiogenezę, proliferację i apoptozę komórek endometrium. Praca ta jest także bardzo dobrą podstawą do oceny kwestii związanych z mikrobiomem, jako że omawia związek między wybranymi patogennymi bakteriami a stanami zapalnymi mogącymi przyczyniać się do progresji raka endometrium.

**Praca 2:** *Kuźmycz O., Kowalczyk A., Stączek P.: Biological activity of fac-[Re(CO)<sub>3</sub>(phen)(aspirin)], fac-[Re(CO)<sub>3</sub>(phen)(indomethacin)] and their original*

*counterparts against Ishikawa and HEC-1A endometrial cancer cells. Int J Mol Sci 2022; 23(19): 11568*

W pracy tej dokonano oceny aktywności stosowanych NLPZ i ich selektywności wobec COX-1/COX-2 wobec komórek. Badania wykazały selektywną aktywność renowych pochodnych NLPZ wobec komórek nowotworowych HeLa. Określono  $IC_{50}$  cytotoksycznych wobec komórek HeLa i L929 renowych pochodnych indometacyny i aspiryny. Uzyskano bardzo ciekawe wyniki dotyczące właściwej dawki efektywnej leku. Określono także zmiany proliferacji komórek w wyniku inkubacji z badanymi związkami i potwierdzono pozytywne efekty rutynowego stosowania niskich dawek aspiryny na przeżywalność kobiet z nowotworami ginekologicznymi. Ponadto badano wpływ NLPZ na zwiększoną produkcję reaktywnych form tlenu (RFT), będącą mechanizmem wywołującym efekty uboczne w układzie pokarmowym. W badaniach nad komórkami Ishikawa stwierdzono zwiększoną produkcję RFT w cytozolu po inkubacji zarówno z klasycznymi NLPZ, jak i ich renowymi pochodnymi. Miały one także istotny wpływ na poziom RFT w komórkach HEC-1A przy stężeniach odpowiadających połowie wartości  $IC_{50}$ . Z pracy wyciągnięto ciekawy i ważny aplikacyjny wniosek, że renowe pochodne NLPZ wykazują wysoki potencjał prewencyjny w raku trzonu macicy i w przypadku dalszego poznawania tej aktywności mogą okazać się ważnymi lekami wspomagającymi terapię.

**Praca 3:** *Kuźmycz O., Kowalczyk A., Bolanowska A., Drodżowska A., Lach J., Wierzbńska W., Kluz T., Stączek P.: A comprehensive analysis of the uterine microbiome in endometrial cancer patients identification of Anaerococcus as a potential biomarker and carcinogenic cofactor. Front. Cell. Infect. Microbiol. 2025; 15:1511625. doi: 10.3389/fcimb.2025.1511625*

W pracy tej podjęto próbę identyfikacji taksonów w wymazach dystalnej części kanału szyjki macicy, by opracować potencjalne narzędzie diagnostyczne w wykrywaniu nowotworów

endometrium. Pracę tę uważam za szczególnie cenną w rozprawie doktorskiej Pani mgr Olgi Kuźmycz, jako że jest ona nie tylko zaawansowaną pracą badawczą, ale także niesie ogromny ciężar gatunkowy w kontekście poszukiwania metod wykorzystywania mikrobiomu jako czynnika wskaźnikowego w rozpoznawaniu i szybkiej diagnostyce nowotworów. Nie ma wątpliwości, że to proces niezwykle skomplikowany, gdyż jak wiadomo, ilość czynników wpływających na zróżnicowanie mikrobiomu jest nieskończona, ale podjęta przez Autorkę próba jest godna docenienia. Wyniki wskazały na występowanie bardziej jednorodnej mikrobioty u pacjentek z mięśniakami macicy w porównaniu z pacjentkami z nowotworem endometrium, w których występowała większa różnorodność mikroorganizmów. Co więcej, wskazano także na *Anaerococcus* jako takson różnicujący grupę nowotworową i z mięśniakami, dalsze badania w tym względzie są konieczne, ale obecnie uzyskane są już ważnym krokiem na drodze do opracowania potencjalnej nowej strategii diagnostycznej w oparciu o ten takson.

**Wyniki niepublikowane:** Celem tej części badań była ocena związku pomiędzy występowaniem *Gardnerella vaginalis* a patogenezą nowotworu endometrium oraz ocena wpływu tego szczepu na rozwój nowotworu endometrium. W pracy oceniono stopień adhezji tego szczepu w stosunku do ludzkich komórek endometrium oraz aktywność protekcyjną *Lactobacillus jensenii* na proces chorobowy. Badania opierały się na wykorzystaniu szeregu specyficznych metod badawczych, które w pełni są akceptowalne i wyczerpują panel badawczy w tym zakresie. Ze względu na własne zainteresowania badawcze, chciałabym szczególnie docenić immunologiczny aspekt tej pracy, wskazujący na fakt, że obecność *G.vaginalis* wpływa na wzrost uwalniania cytokin prozapalnych, szczególnie IL-6 i IL-8 z jednoczesnym hamowaniem aktywności IL-2, co może istotnie wpływać immunosupresyjnie i modulować odpowiedź przeciwnowotworową. Wyniki zostały przedstawione bardzo swoiście, widać wyraźnie, że – tak jak wskazuje Autorka – materiał ten został przygotowany pod przyszłą publikację z zachowaniem wszelkich zasad publikowania takiego rodzaju prac badawczych. Ta

część rozprawy doktorskiej zawiera również profesjonalnie napisaną dyskusję, która potwierdza bardzo dobre poruszanie się Pani mgr Olgi Kuźmycz w tematyce badawczej. Zawarte jest oczywiście także dobrze dobrane i swoiste piśmiennictwo. Na podstawie uzyskanych wyników z tej części rozprawy doktorskiej wysunięto wnioski, że zarówno *G.vaginalis* oraz *L.jensenii* wykazują duży potencjał adhezyjny do komórek nowotworowych i nienowotworowych endometrium, a obecność *G.vaginalis* istotnie wpływa na obniżenie aktywności protekcyjnej *L.jensenii*.

Na podstawie całości rozprawy doktorskiej (zarówno publikacji, jak i danych niepublikowanych) Pani mgr Olga Kuźmycz wysnuła szereg właściwych i trafnych wniosków:

1. Renowe pochodne aspiryny oraz indometacyny działają cytotoksycznie wobec komórek raka endometrium Ishikawa i HEC-1A.
2. Wykazano różnice składu mikrobiomu wymazów dystalnej części kanału szyjki macicy między kobietami z nowotworem endometrium i bez nowotworu.
3. Wskazano na takson *Anaerococcus vaginalis* jako potencjalny marker mikrobiologiczny nowotworu.
4. Wskazano na rolę bakterii *Gardnerella vaginalis* jako obniżającej potencjał protekcyjny, aktywującej szlaki sygnałne związane z apoptozą komórek endometrium oraz wpływającą na odporność przeciwnowotworową.
5. Wyniki te mają nie tylko wysoką wartość poznawczą, co do patogenezy nowotworu endometrium, ale również mają wysoki potencjał w kontekście polepszania diagnostyki i prewencji tego nowotworu.

#### IV. Ocena końcowa pracy

Praca doktorska 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*” jest bardzo jakościowym oryginalnym opracowaniem problemu badawczego o bardzo wysokiej wartości merytorycznej. Założenia oraz cel rozprawy są niezwykle ambitne i zostały w pełni zrealizowane. Wyciągnięte wnioski cechują się zarówno oryginalnością, jak i dużą wartością merytoryczną – nie tylko skutecznie odpowiadają na postawione pytania badawcze, ale stanowią również znaczące osiągnięcie naukowe o wysokim potencjale praktycznego zastosowania.

Stwierdzam, że rozprawa doktorska 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*”, którą wykonała pod kierunkiem Pana dr hab. Pawła Stączka, prof. UŁ w Katedrze Mikrobiologii Molekularnej Instytutu Mikrobiologii, Biotechnologii i Immunologii Wydziału Biologii i Ochrony Środowiska Uniwersytetu Łódzkiego **wskazuje na spełnienie** wszystkich warunków określonych w art. 187 ust. 1 i 2 ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz.U. z 2024 r., poz. 1571). Wnoszę zatem o dopuszczenie Pani mgr Olgi Kuźmycz do dalszych etapów postępowania doktorskiego.

Jednocześnie, z uwagi na bardzo wysoką jakość przedstawionej mi do oceny rozprawy doktorskiej, a w szczególności:

- trafne określenie aktualności i znaczenia problematyki badawczej oraz jej wkładu w uzupełnienie istniejącej luki wiedzy;
- solidne oparcie badań na rzetelnej i szerokiej wiedzy teoretycznej;
- przemyślane zaplanowanie i realizację eksperymentów z doбором odpowiednich metod;

- poprawną analizę, interpretację i konfrontację wyników z istniejącymi danymi oraz prowadzenie konstruktywnej dyskusji;
- biegłość w przygotowywaniu manuskryptów naukowych, publikowanych w renomowanych czasopismach branżowych;
- zdolność do formułowania trafnych, logicznych i dobrze uargumentowanych wniosków;
- praktyczny wymiar prowadzonych badań;
- ogrom pracy włożonej w wykonanie rozprawy w formie hybrydowej, które wymagało od Doktorantki nie tylko opublikowania wyników badań, ale także opisanie wyników niepublikowanych, **wnioskuję o stosowne wyróżnienie.**