INSTYTUT
GENETYKI CZŁOWIEKA
POLSKIEJ AKADEMII NAUK

Poznań, 12 października 2026 roku

dr hab. Marzena Skrzypczak-Zielińska
Instytut Genetyki Człowieka PAN
ul. Strzeszyńska 32, 60-479 Poznań

Ocena rozprawy doktorskiej

mgr Bernadety Drymel
pt. „Analiza mikrobiomu jelitowego chorych na zaawansowanego czerniaka poddanych immunoterapii"

przygotowanej pod kierunkiem dr hab. n. med. Marcina Schmidta, prof. UPP
oraz dr n. med. Łukasza Galusa (promotor pomocniczy)

Rozprawa została przedłożona w dziedzinie nauk medycznych i nauk o zdrowiu, w dyscyplinie nauki medyczne, w Instytucie Onkologii Uniwersytetu Medycznego im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu. Badania zrealizowano w Katedrze Biotechnologii i Mikrobiologii Żywności Uniwersytetu Przyrodniczego w Poznaniu

1. Tematyka podjętych badań

Temat podjętych badań jest bardzo aktualny i nowatorski, a zarazem trudny i ambitny, z uwagi na dużą zmienność międzyosobniczą mikrobioty jelitowej, która wymaga od badacza szczególnej ostrożności w interpretacji obserwowanych różnic. Immunoterapia istotnie zmieniła rokowanie w zaawansowanym czerniaku, jednak znaczna część chorych nie odnosi z niej trwałej korzyści, a dostępne czynniki predykcyjne odpowiedzi pozostają niewystarczające. Poszukiwanie uwarunkowań skuteczności leczenia poza samym guzem należy dziś do intensywnie rozwijanych kierunków w onkologii klinicznej. Jednocześnie dotychczas publikowane wyniki dotyczące składu mikrobioty jelitowej, stanu bariery jelitowej i odporności śluzówkowej są niespójne pomiędzy kohortami, co wskazuje na istotną rolę różnic populacyjnych i czyni szczególnie potrzebnymi badania prowadzone w dotąd nieopisanych populacjach.

Podjęte zagadnienie ma ponadto wyraźny potencjał translacyjny. Badane wskaźniki są oznaczane w materiale pozyskiwanym nieinwazyjnie, czyli w kale i krwi obwodowej, a ich ewentualna wartość prognostyczna mogłaby w przyszłości wspierać kwalifikację chorych do immunoterapii oraz monitorowanie przebiegu leczenia. Uważam zatem, że zagadnienia

podjęte w rozprawie stanowią ważny temat badawczy, a uzyskane wyniki są pożądane nie tylko w kontekście naukowym, ale również z perspektywy przyszłych zastosowań klinicznych.

2. Ocena formalna

Przedstawiona mi do oceny rozprawa doktorska została przygotowana w formie zbioru monotematycznych prac, zgodnie z art. 187 ust. 3 ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce. Pozycje składające się na rozprawę zostały opublikowane w latach 2020, 2022, 2024 i 2025. Trzy artykuły są pracami eksperymentalnymi, a pozycję nr 2 w wykazie stanowi praca poglądowa:

1) Pietrzak B, Tomela K, Olejnik-Schmidt A, Galus Ł, Mackiewicz J, Kaczmarek M, Mackiewicz A, Schmidt M. A Clinical Outcome of the Anti-PD-1 Therapy of Melanoma in Polish Patients Is Mediated by Population-Specific Gut Microbiome Composition. *Cancers*. 2022; 14 (21): 5369. https://doi.org/10.3390/cancers14215369. Punktacja MNiSW 140, wskaźnik IF 5,200, cytowania: 27

2) Pietrzak B, Tomela K, Olejnik-Schmidt A, Mackiewicz A, Schmidt M. Secretory IgA in Intestinal Mucosal Secretions as an Adaptive Barrier against Microbial Cells. *International Journal of Molecular Sciences*. 2020; 21 (23): 9254. https://doi.org/10.3390/ijms21239254 Punktacja MNiSW 140, wskaźnik Impact Factor 5,924, cytowania: 194

3) Drymel B, Tomela K, Galus Ł, Olejnik-Schmidt A, Mackiewicz J, Kaczmarek M, Mackiewicz A, Schmidt M. Characteristics of Intestinal Barrier State and Immunoglobulin-Bound Fraction of Stool Microbiota in Advanced Melanoma Patients Undergoing Anti-PD-1 Therapy. *International Journal of Molecular Sciences*. 2025; 26 (16): 8063. https://doi.org/10.3390/ijms26168063. Punktacja MNiSW 140, wskaźnik IF 4,900, cytowania: 0

4) Drymel B, Tomela K, Galus Ł, Olejnik-Schmidt A, Mackiewicz J, Kaczmarek M, Mackiewicz A, Schmidt M. Circulating Cell-Free Microbial DNA Signatures and Plasma Soluble CD14 Level Are Associated with Clinical Outcomes of Anti-PD-1 Therapy in Advanced Melanoma Patients. *International Journal of Molecular Sciences*. 2024; 25 (23): 12982. https://doi.org/10.3390/ijms252312982. Punktacja MNiSW 140, wskaźnik IF 4,900, cytowania: 2

Łączna wartość współczynnika oddziaływania wynosi 20,924, a łączna punktacja ministerialna 560 punktów. Wartości wskaźnika IF podano według *Journal Citation Reports* dla roku publikacji, a dla pracy z 2025 roku - według ostatniego wydania dostępnego w chwili jej ukazania się. Dane o cytowaniach podano za autoreferatem. Praca oryginalna z 2022 roku (pozycja nr 1 w wykazie) była przytaczana w piśmiennictwie 27 razy, co jest wynikiem godnym uznania i potwierdza poziom naukowy oraz znaczenie publikacji w dziedzinie. Warto także zauważyć, że Doktorantka wykazała się nie tylko znaczącym

dorobkiem w postaci prac oryginalnych, lecz także umiejętnością syntetycznego opracowania zagadnienia naukowego, praca poglądowa z 2020 roku była cytowana 194 razy. Liczby te wzrosły od chwili złożenia rozprawy; według bazy Web of Science praca poglądowa była dotąd cytowana 227 razy.

Wszystkie cztery publikacje są opracowaniami wieloautorskimi, powstałymi we współpracy kilku jednostek naukowych i klinicznych. Fakt ten odzwierciedla złożony charakter badań, wymagający udziału specjalistów z różnych dziedzin. We wszystkich pracach Doktorantka jest jedynym pierwszym autorem. Z oświadczeń współautorów prac składających się na rozprawę wynika, że mgr Drymel była odpowiedzialna za zaprojektowanie przebiegu badań i dobór zastosowanych metod, zbieranie materiału, analizę, w tym statystyczną, oraz interpretację danych i wyników, analizę piśmiennictwa w zakresie przedmiotowym, graficzną prezentację i wizualizację danych, a także za planowanie i przygotowanie tekstu manuskryptu, co w pełni uzasadnia jej duży udział. We wszystkich pracach Doktorantka jest autorem korespondencyjnym wspólnie z promotorem, co dodatkowo potwierdza jej wiodącą rolę w przygotowaniu publikacji.

W złożonej rozprawie zbiór publikacji poprzedzony jest 30-stronicowym autoreferatem, składającym się z następujących rozdziałów: wykaz publikacji stanowiących rozprawę doktorską, aktywność naukowa i dorobek naukowy; przedmiot badań i komentarz obejmujący wstęp, założenia rozprawy doktorskiej, opis grupy badanej oraz materiały i metody; omówienie każdej pracy wchodzącej w skład cyklu z uwzględnieniem osiągnięć badawczych kandydata na tle aktualnego stanu wiedzy; najważniejsze wnioski; piśmiennictwo oraz streszczenia w języku polskim i angielskim. Na początku rozprawy, poza spisem treści, znajduje się wykaz najczęściej stosowanych skrótów oraz informacja o finansowaniu badań przez Narodowe Centrum Nauki w ramach projektu OPUS, którego kierownikiem jest promotor, Pan dr hab. n. med. Marcin Schmidt, prof. UPP. Na przeprowadzenie badań kierownik projektu uzyskał zgody Komisji Bioetycznej przy Uniwersytecie Medycznym im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu, których kopie Doktorantka zamieściła na końcu autoreferatu. Wykaz cytowanego w autoreferacie piśmiennictwa obejmuje 105 pozycji z ostatnich lat, autorstwa zarówno badaczy polskich, jak i zagranicznych, uszeregowanych według kolejności cytowania w tekście.

Autoreferat napisany jest komunikatywnie, a wywód prowadzony jest logicznie i czytelnie. Zauważalne są jedynie drobne usterki językowe i edytorskie. Przykładowo, zamiast sformułowania „badanie przeprowadzone na chorych" powinno być „u chorych" (str. 14), a zwrot „chorzy na SIgAD rozwijają choroby" należałoby zastąpić formą „u chorych na SIgAD rozwijają się choroby" (str. 16). W omówieniu publikacji nr 4 w zapisie liczb

dziesiętnych miejscami użyto kropki zamiast przecinka jako separatora dziesiętnego. Uchybienia te nie wpływają w istotny sposób na ocenę pracy. **Pod względem formalnym rozprawa nie budzi zastrzeżeń.**

3. Ocena merytoryczna

Doktorantka wprowadza czytelnika w tematykę rozprawy zwięzłym i klarownym wstępem, nakreślając problem zmiennej skuteczności immunoterapii w czerniaku oraz potencjalną rolę mikrobioty jelitowej. Rozprawa opiera się na dwóch założeniach: że skład mikrobioty jelitowej, jej frakcji związanej z immunoglobulinami (Ig-frakcja), krążącego pozakomórkowego DNA drobnoustrojów (cfmDNA) w osoczu oraz stan bariery jelitowej wiążą się z odpowiedzią na immunoterapię anty-PD-1, korzyścią kliniczną z leczenia lub jej brakiem, czasem wolnym od progresji (PFS) i czasem przeżycia całkowitego (OS), oraz że parametry te zmieniają się w trakcie leczenia anty-PD-1. **Cel pracy uznaję za jasno sformułowany, ambitny i aktualny**.

Materiał stanowiły próbki kału i krwi od 64 chorych na nieoperacyjnego czerniaka w stopniu III lub IV, leczonych anty-PD-1 w ramach programu lekowego w Szpitalu Klinicznym Uniwersytetu Medycznego w Poznaniu w latach 2018–2021, oraz od 10 zdrowych ochotników; odpowiedź oceniano według RECIST v1.1, a próbki pobierano przed leczeniem i po 3, 6, 9 oraz 12 miesiącach. Na badania uzyskano zgody Komisji Bioetycznej przy Uniwersytecie Medycznym w Poznaniu. Metodyka jest szeroka i adekwatna do postawionych pytań: sekwencjonowanie regionów V3–V4 genu 16S rRNA, sekwencjonowanie shotgun z rekonstrukcją genomów metagenomowych, izolacja Ig-frakcji na kulkach magnetycznych i cfmDNA z osocza oraz oznaczenia zonuliny, kalprotektyny, SIgA i sCD14. Na uznanie zasługuje część bioinformatyczna publikacji pierwszej, tzn. przypisanie *Prevotella copri* do kladów filogenetycznych na podstawie zrekonstruowanych genomów wykracza poza standard badań amplikonowych.

Spośród obszernych wyników przedstawię najważniejsze. Publikacja 1 wykazała u chorych odpowiadających wyższy stosunek udziału *Bacteroidota* do *Bacillota* oraz wzbogacenie w *P. copri* i *B. uniformis*, a u nieodpowiadających *F. prausnitzii*, *D. intestinalis* oraz przedstawicieli *Izemoplasmatales* i *Clostridia* UCG-014; różnice potwierdzono po korekcie na wielokrotne testowanie. Odpowiedź wiązała się także z wysokim spożyciem produktów roślinnych i niskim przetworów mlecznych. Publikacja 2 to rzetelny przegląd piśmiennictwa o wydzielniczych immunoglobulinach A, stanowiący podbudowę pracy kolejnej.

Publikacja 3 wykazała wyższe wyjściowe stężenie SIgA w kale u chorych odpowiadających oraz związek wszystkich trzech markerów bariery jelitowej z czasem przeżycia; po raz pierwszy scharakteryzowano skład Ig-frakcji mikrobioty w tej grupie.

Obserwacja, że korelacja między mikrobiotą a jej Ig-frakcją rośnie w trakcie leczenia u odpowiadających, a maleje u nieodpowiadających, jest spójna z opisanym w modelach zwierzęcych udziałem sygnalizacji PD-1/PD-L1 w selekcji IgA i stanowi najbardziej oryginalny element cyklu. Publikacja 4 wykazała różnice w składzie krążącego cfmDNA, najwyraźniejsze po trzech miesiącach terapii, oraz związek sCD14 z przebiegiem leczenia, jego wzrost lub stabilizacja w tym okresie wiązały się z krótszym PFS i OS.

Wysoko oceniam poziom naukowy rozprawy; uzyskane wyniki istotnie poszerzają wiedzę o roli mikrobioty i bariery jelitowej w odpowiedzi na immunoterapię, dostarczając przy tym pierwszych danych z populacji polskiej.

Lektura rozprawy nasuwa trzy uwagi krytyczne:

1) analiza statystyczna nie uwzględnia czynników zakłócających. W publikacji pierwszej zastosowano testy jednoczynnikowe, PERMANOVA i model liniowy, a w publikacjach trzeciej i czwartej modele Coxa opisano bez wskazania współzmiennych. Tymczasem mediana stężenia LDH była istotnie wyższa u chorych nieodpowiadających, a LDH jest uznanym wskaźnikiem masy nowotworu. W dyskusji publikacji pierwszej zaznaczono wprawdzie, że różnice wyjściowe między grupami uwzględniono podczas analizy składu mikrobioty jelitowej, metodyka nie opisuje jednak, w jaki sposób to zrobiono.
2) punkty odcięcia dla markerów prognostycznych wyznaczono metodą maksymalizowanych statystyk rangowych (ang. *maximally selected rank statistics*), która dobiera próg optymalny dla danego zbioru danych; nie opisano jednak korekty wartości *p* uwzględniającej ten dobór ani walidacji zewnętrznej, wobec czego podane wartości należy traktować jako eksploracyjne.
3) w publikacji czwartej kontrola kontaminacji jest niepełna: zastosowano wprawdzie dekontaminację UV i filtr oparty na liście Saltera i wsp., nie zsekwencjonowano jednak kontroli negatywnych ani pozytywnej o znanym składzie, co przy tak niskiej biomasie jak osocze pozostaje istotną kwestią.

Uwagi te dotyczą ostrożności wnioskowania, a nie rzetelności badań, i nie podważają wartości rozprawy.

Dwie drobne uwagi: 1) rozwinięcie skrótu cfmDNA jako „pozakomórkowy bakteryjny DNA" zawęża zakres pojęcia - właściwsze byłoby „pozakomórkowe DNA drobnoustrojów"; 2) współczynniki *Bacteroidota/Bacillota* (publikacja 1) i *Firmicutes/Bacteroidetes* (publikacja 3) są wzajemnie odwrotne, co bez zaznaczenia utrudnia porównanie obu prac.

Podsumowując, mgr Bernadeta Drymel przygotowała wartościową i nowatorską rozprawę doktorską, której lektura nasuwa kilka pytań dyskusyjnych:

1) Jak Doktorantka ocenia swoistość komercyjnego zestawu ELISA do oznaczania zonuliny w świetle doniesień walidacyjnych i czy wpływa to na interpretację jej związku z dłuższym czasem przeżycia całkowitego?

2) Czy rozważano analizę frakcji niezwiązanej i obliczenie indeksu wzbogacenia dla Ig-frakcji? Przyjęcie mikrobioty całkowitej jako komparatora nie pozwala odróżnić różnic w opłaszczaniu od zmian w składzie samej mikrobioty.

3) Jak wyjaśnić niższą alfa-różnorodność u chorych odpowiadających wobec przeciwnych wyników w większości publikowanych kohort?

4) Jakie Doktorantka widzi możliwości kontynuacji badań? Czy rozważa weryfikację uzyskanych wynik w niezależnej grupie pacjentów lub w publicznych zbiorach danych?

4. Wniosek końcowy

Doktorantka podjęła w rozprawie bardzo aktualny i ważny temat badawczy. Po zapoznaniu się z przedłożoną rozprawą stwierdzam, że stanowi ona spójny zestaw publikacji naukowych będących oryginalnym rozwiązaniem problemu naukowego i potwierdza umiejętność samodzielnego prowadzenia pracy naukowej przez Doktorantkę. **Rozprawę oceniam pozytywnie** i spełnia ona wymagania określone w art. 187 ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 2018 r. poz. 1668, z późn. zm.).

Powyższe upoważnia mnie do zwrócenia się do Rady Kolegium Nauk Medycznych Uniwersytetu Medycznego im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu z wnioskiem o dopuszczenie mgr Bernadety Drymel do dalszych etapów postępowania w sprawie nadania stopnia doktora, w tym do publicznej obrony rozprawy doktorskiej.

Ze względu na całościowe opracowanie zagadnienia, nowatorski charakter uzyskanych wyników, istotny aspekt kliniczny, a także uwzględniając spełnienie wymogów formalnych (opublikowanie w całości lub części wyników rozprawy w przypadku cyklu publikacji w formie prac oryginalnych w recenzowanych czasopismach naukowych, co najmniej jednej pracy z IF i za 140 punktów lub co najmniej dwóch prac z IF i za 100 punktów każda) **wnioskuję o wyróżnienie rozprawy doktorskiej**.

Marzena Skrzypczak-Zielińska

dr hab. Marzena Skrzypczak-Zielińska,
prof. IGC PAN