

Lublin 5.01.2026

Recenzja

rozprawy doktorskiej Pani mgr Darii Anny Haręży
pt.: „Zakażenie ludzkim wirusem brodawczaka typu 16 i polimorfizm genów
kodujących receptory Toll-podobne jako czynniki ryzyka raka jajnika”

Przedstawiona mi do recenzji praca doktorska została wykonana pod kierownictwem naukowym Pani prof. dr hab. Edyty Paradowskiej w Pracowni Wirusologii Instytutu Biologii Medycznej Polskiej Akademii Nauk w Łodzi. Promotorem pomocniczym była Pani dr Katarzyna Dominika Kania.

Podstawę formalną wykonania recenzji stanowi pismo Przewodniczącego Rady Naukowej Instytutu Biologii Medycznej PAN, Pana prof. dr hab. Antoniego Różalskiego z dnia 10.12.2025 r.

Przedstawiona rozprawa doktorska obejmuje cykl czterech monotematycznych oryginalnych publikacji naukowych opublikowanych w latach 2022-2025 w czasopismach znajdujących się w bazie *Journal Citation Reports* (JCR):

1. **Haręża, D. A.**, Wilczyński, J. R., Paradowska, E. (2022). Human papillomaviruses as infectious agents in gynecological cancers. Oncogenic properties of viral proteins. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(3), 1818. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijms23031818>. IF = 4,9, MEiN = 140 pkt.
2. Paradowska, E.*, **Haręża, D. A.***, Kania, K. D., Jarych, D., Wilczyński, M., Malinowski, A., Kawecka, M., Nowak, M., Wilczyński, J. R. (2024). Human

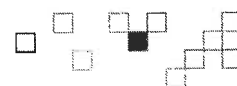
papillomavirus infection of the fallopian tube as a potential risk factor for epithelial ovarian cancer. Scientific Reports, 14(1), 21602. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41598-024-72814-0>. * pierwszy autor, IF = 3,9, MEiN = 140 pkt.

3. Kania, K. D., **Hareża, D.**, Wilczyński, J. R., Wilczyński, M., Jarych, D., Malinowski, A., Paradowska, E. (2022). The Toll-like receptor 4 polymorphism Asp299Gly is associated with an increased risk of ovarian cancer. Cells, 11(19), 3137. DOI: <https://doi.org/10.3390/cells11193137>. IF = 5,2. MEiN = 140 pkt.
4. **Hareża, D.A.**, Kania, K.D., Jarych, D., Wilczyński, J.R., Wilczyński, M., Malinowski, A., Paradowska, E. (2025). TLR8 and TLR9 gene polymorphisms and the risk of high-grade serous ovarian cancer. International Journal of Biological Macromolecules, 313:144259. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2025.144259>. IF = 8,5, MEiN = 100 pkt.

Łączna wartość tych publikacji wg listy czasopism punktowanych MEiN wynosi 520 pkt, zaś wartość współczynnika IF wg listy JCR – 22.5. W trzech z wymienionych prac Pani mgr Daria Hareża jest pierwszą autorką, w jednej pracy – drugą, a złożone oświadczenia pozostałych współautorów są dowodem na wiodący udział Doktorantki w powstaniu publikacji. Badania opisane w rozprawie były prowadzone w ramach projektu Narodowego Centrum Nauki nr 2019/33/B/NZ7/02872 (OPUS-17) pt. „Badania mechanizmów molekularnych związanych z zakażeniami HPV i CMV w patogenezie raka jajnika”.

Wartość naukowa rozprawy doktorskiej

Według mojej oceny, wartość naukowa tej rozprawy jest wysoka; praca wnosi nowe dane na temat potencjalnej roli zakażenia HPV-16 i polimorfizmów TLR w patogenezie raka jajnika, wykorzystując zarówno modele komórkowe, jak i materiał kliniczny. Rak jajnika ma słabo poznane czynniki ryzyka i brak jasno zdefiniowanego „czynnika zakaźnego”, w przeciwieństwie do raka szyjki macicy czy wątroby, stąd pokazanie, że u części chorych występuje HPV-16 oraz specyficzne zaburzenia w szlakach sygnałowych może doprecyzować modele jego powstawania. Polimorfizmy TLR pokazują, że wrodzona odpowiedź immunologiczna gospodarza może modulować ryzyko nowotworu – nie tylko przy infekcjach bakteryjnych/wirusowych, ale także w kontekście przewlekłego stanu zapalnego w jajniku. Dlatego, identyfikacja wariantów TLR związanych z ryzykiem raka jajnika jest pierwszym



krokiem do budowy paneli predyspozycji, które uzupełnią znane geny wysokiego ryzyka (BRCA1/2) i pozwolą lepiej kwalifikować kobiety do nadzoru lub profilaktyki. W pracy Pani mgr Darii Haręży dane z linii komórkowych pokazują mechanizmy (jak onkoproteiny HPV-16 i TLR wpływają na ekspresję genów, szlaki NF- κ B, JAK/STAT), a materiał kliniczny potwierdza, że podobne zaburzenia występują w rzeczywistych guzach u pacjentek. Taka synergia zwiększa wiarygodność wniosków i daje podstawę do dalszych badań translacyjnych – nad biomarkerami z krwi/tkanki i nad celami terapeutycznymi (modulacja TLR, szlaków zapalnych), które mogą realnie poprawić diagnostykę i leczenie raka jajnika.

Pierwsza publikacja dotyczy wykrywania zakażenia HPV-16 (i częściowo innych wirusów) w tkankach jajnika i jajowodu u pacjentek z nabłonkowym rakiem jajnika oraz analizy wybranych zmian molekularnych w tych guzach. Badanie pokazuje, że DNA HPV-16 występuje w niskiej liczbie kopii u istotnego odsetka chorych, częściej w jajowodach niż w samych guzach jajnika, oraz że w przypadkach HGSOE częstość i miano wirusa są wyższe niż w guzach łagodnych; równocześnie Autorka opisuje zaburzenia ekspresji kluczowych regulatorów cyklu (TP53, pRB, p16, E2F, c-MYC, NF- κ B1) w tkankach raka, wskazując możliwe powiązania między zakażeniem HPV a deregulacją tych szlaków.

Druga publikacja koncentruje się na polimorfizmach genów TLR4 i TLR8 jako potencjalnych czynnikach ryzyka rozwoju nabłonkowego raka jajnika, szczególnie typu HGSOE. Autorka wykazała, że wariant TLR4 rs4986790 Asp299Gly oraz polimorfizm promotora TLR8 rs3764879 występują istotnie częściej u pacjentek z rakiem jajnika niż u zdrowych kobiet, a obecność tych alleli wiąże się zarówno ze zwiększonym ryzykiem choroby, jak i – w przypadku TLR8 – z wyższą ekspresją tego receptora w guzach, co sugeruje, że modyfikacje odpowiedzi wrodzonej (TLR-zależnej) mogą wpływać na karcynogenezę jajnika.

Trzecia publikacja dotyczy analizy ekspresji genów i białek kluczowych szlaków sygnalizacyjnych w raku jajnika z uwzględnieniem zakażenia HPV-16. W pracy porównano ekspresję mRNA i białek takich regulatorów, jak p53, pRB, p16, E2F, c-MYC, NF- κ B1, BCL-2 oraz wybranych cytokin (m.in. IL-6, IL-10, TNF- α) w: klonach komórkowych z nadekspresją onkoprotein E5/E6/E7 HPV-16, tkankach guza, strzępkach jajowodu i surowicach pacjentek, pokazując, że zakażenie HPV oraz określone zaburzenia tych szlaków współwystępują w HGSOE i mogą sprzyjać proliferacji, oporności na apoptozę oraz progresji choroby.



Czwarta publikacja stanowiąca podstawę dysertacji dotyczy analizy stężeń cytokin pro- i przeciwzapalnych w surowicy kobiet z nabłonkowym rakiem jajnika w porównaniu z kobietami zdrowymi i z guzami granicznymi. Wykazano istotnie wyższe stężenia IL-6, IL-10 i TNF- α u pacjentek z rakiem jajnika, a wartości tych cytokin korelowały ze stopniem zaawansowania choroby (FIGO) i wiekiem chorych, co wskazuje na ich potencjalną rolę jako markerów zaawansowania/progresji oraz odzwierciedlenie stanu zapalnego towarzyszącego karcynogenezie jajnika.

Oryginalne prace badawcze stanowiące podstawę prezentowanej pracy doktorskiej były już poddane wcześniejszej ocenie przez redakcje czasopism i niezależnych recenzentów. Z tego względu moja ocena dotyczy Autoreferatu będącego autorskim opracowaniem Pani mgr Darii Haręży.

Ocena Autoreferatu

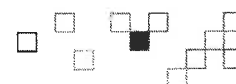
Pani mgr Daria Haręża przedstawiła Autoreferat zgodnie z wymogami dla prac doktorskich przygotowanych w oparciu o opublikowane manuskrypty. Autoreferat rozpoczyna trzypięciowy Spis skrótów oraz Streszczenia w języku polskim i angielskim. Kolejnymi częściami Autoreferatu są: Wstęp, Cel pracy, omówienie badań stanowiących podstawę rozprawy doktorskiej, analiza poziomu ekspresji genów uczestniczących w szlakach sygnalizacyjnych związanych z transformacją i progresją nowotworu, Materiały i Metody, omówienie Wyników oraz Dyskusja. Na końcu Doktorantka umieszcza podsumowanie wraz z bibliografią oraz kopie artykułów stanowiących monotematyczny zbiór publikacji, jak również oświadczenia wykazujące wkład autorów w powstanie publikacji będących podstawą rozprawy doktorskiej.

Autoreferat oceniłam w konwencji mocnych i słabszych stron.

Mocne strony Autoreferatu

1. Aktualny, ważny problem badawczy

Połączenie wirusologii (HPV-16), odpowiedzi wrodzonej (TLR) i onkologii ginekologicznej odpowiada na realną lukę w wiedzy o czynnikach ryzyka raka jajnika, który wciąż cechuje się wysoką śmiertelnością i brakiem dobrych metod wczesnego wykrywania. Jasno zdefiniowany cel pracy i dobre osadzenie w projekcie NCN (OPUS) budują wiarygodność oraz znaczenie kliniczne badań.



2. Rozbudowana, nowoczesna metodologia

Autorka wykorzystwała imponujący zakres technik: hodowle komórkowe z nadekspresją onkoprotein E5/E6/E7 HPV-16, pierwotne hodowle z guzów jajnika, PCR/RT-qPCR, analizy SNP (ADA, PCR-RFLP), oznaczenia cytokin, immunohistochemia i zaawansowana analiza statystyczna. Bardzo dokładny opis materiałów i metod (linie komórkowe, biopłaty, protokoły izolacji, transfekcji, walidacji żywotności), który zapewnia wysoką powtarzalność doświadczeń i spełnia standardy dobrego raportowania badań eksperymentalnych.

3. Spójna struktura i bogate tło teoretyczne

Obszerny wstęp dotyczący budowy jajnika, typów raka, czynników ryzyka, biologii HPV i roli TLR dobrze prowadzi czytelnika od ogółu do szczegółu. Część przeglądowa o szlakach sygnalizacyjnych (NF- κ B, JAK/STAT, PI3K/AKT, MAPK itd.) ułatwia interpretację późniejszych wyników ekspresji genów/białek.

4. Doskonale i szczegółowo opisane wyniki oraz bardzo dobra dyskusja

Wyniki obejmują zarówno modele in vitro (klony komórkowe z onkoproteinami HPV), jak i materiał kliniczny (tkanki, surowice), co zwiększa wartość translacyjną wniosków. Dyskusja odnosi się do szerokiej literatury, krytycznie zestawia uzyskane dane z innymi badaniami i wyraźnie wskazuje, gdzie praca potwierdza, a gdzie rozszerza dotychczasową wiedzę.

Słabsze strony Autoreferatu

1. Rozproszenie celu i mnogość wątków

Praca obejmuje bardzo wiele poziomów (zakażenie HPV w tkankach, polimorfizmy TLR, ekspresja szeregu genów i białek, profil cytokin), co miejscami rozmywa główną hipotezę i utrudnia wyeksponowanie najważniejszych odkryć. W podsumowaniu warto wyraźniej wskazać 2–3 kluczowe wnioski (np. konkretne warianty TLR istotnie związane z ryzykiem, charakterystyczny „podpis” ekspresyjny dla HPV-dodatnich raków), a pozostałe wyniki przedstawić jako wspierające.

2. Nierównomierna objętość i miejscowy nadmiar detali

Opis materiałów/odczynników jest bardzo szczegółowy (długie listy aparatury, roztworów), co jest poprawne technicznie, ale obniża czytelność rozprawy; część z tych informacji mogłaby być przeniesiona do załącznika lub tabel. W niektórych



podrozdziałach wstępu (np. szczegółowe opisy niektórych biomarkerów/szlaków) można by skrócić tekst, koncentrując się na elementach bezpośrednio powiązanych z postawioną hipotezą. Rozumiem jednak chęć Doktorantki do szczegółowej prezentacji tych części rozprawy.

3. Prezentacja wyników i statystyka

Fragmenty dotyczące metod analizy statystycznej są stosunkowo krótkie w stosunku do liczby analizowanych zmiennych; przydałoby się mocniejsze podkreślenie sposobu kontroli wielokrotnych porównań (np. korekta Bonferroniego/FDR) i kryteriów doboru modeli wieloczynnikowych. W części wynikowej można rozważyć bardziej zintegrowane przedstawienie danych (np. heatmapy, modele logistyczne łączące polimorfizmy TLR z ekspresją genów i parametrami klinicznymi), co wzmocniłoby przekaz translacyjny.

4. Aspekt kliniczny i praktyczne implikacje

Praca Pani mgr Darii Haręży bardzo dobrze opisuje zależności molekularne, natomiast nieco słabiej wybrzmiewa, jak wyniki mogłyby przełożyć się na konkretne narzędzia kliniczne (np. panel SNP do oceny ryzyka, potencjalne markery wczesnego wykrywania, kierunki terapii celowanej). Warto może mocniej wyeksponować, które obserwacje mają największy potencjał do dalszego rozwoju w badaniach translacyjnych lub klinicznych oraz jakie są ograniczenia badań.

Ponadto, w trakcie obrony chciałabym usłyszeć odpowiedzi Doktorantki na następujące pytania:

1. Dlaczego uznała Pani, że HPV-16 jest realnym kandydatem na czynnik ryzyka raka jajnika, skoro jego rola jest dobrze udokumentowana w raku szyjki macicy, ale w jajniku nadal budzi kontrowersje?
2. Jakie mechanizmy biologiczne (na poziomie komórek jajnika/jajowodu) uważa Pani za najbardziej prawdopodobne dla udziału onkoprotein E5/E6/E7 w transformacji nowotworowej w jajniku?
3. Dlaczego wybrała Pani właśnie te polimorfizmy genów TLR – co przesądziło o selekcji badanych SNP?
4. Jakie są główne zalety i ograniczenia wykorzystania linii SK-OV-3 i OVCAR-3 z nadekspresją onkoprotein HPV w porównaniu z pierwotnymi komórkami raka jajnika?

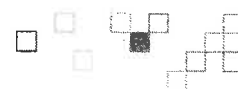


5. Czy miała miejsce kontrola pobieranego materiału z jajnika pod kątem zanieczyszczenia próbki innymi wirusami (np. HPV z szyjki macicy)?
6. Który z badanych polimorfizmów TLR uważa Pani za najsilniej powiązany z ryzykiem raka jajnika i dlaczego?
7. Jak Pani ocenia siłę związku między poziomami cytokin w surowicy a ekspresją genów w tkance – czy można tu mówić o potencjalnych biomarkerach, czy raczej o niespecyficznym odzwierciedleniu stanu zapalnego?
8. Czy na podstawie wyników widzi Pani realną możliwość stworzenia panelu genetyczno-wirusologicznego do oceny ryzyka raka jajnika? Jakie parametry musiałby spełniać, aby miał sens kliniczny?
9. Jakie praktyczne konsekwencje dla diagnostyki lub profilaktyki raka jajnika mogą mieć Pani wyniki – czy widzi Pani miejsce np. dla badań HPV-16 lub genotypowania TLR w rutynowej praktyce?
10. Jak Pani zdaniem Pani wyniki wpisują się w obecne modele patogenezы raka jajnika (pochodzenie z nabłonka jajowodu vs powierzchni jajnika)?

Podsumowanie recenzji

Przedstawiona mi do recenzji rozprawa stanowi dojrzałe, metodologicznie dopracowane dzieło łączące wirusologię, genetykę i onkologię ginekologiczną, o bardzo wysokiej oryginalnej wartości poznawczej. Do jej wzmocnienia przydałoby się wyraźniejsze „wyostrzenie” głównego przekazu, lekkie odchudzenie partii czysto technicznych oraz mocniejsze podkreślenie klinicznych konsekwencji uzyskanych wyników. Z najbardziej wartościowe uważam dwa aspekty tej dysertacji:

1. Zidentyfikowanie HPV-16 i konkretnych polimorfizmów TLR4 i TLR8 jako potencjalnych czynników ryzyka raka jajnika, szczególnie typu HGSOС, co otwiera nowy kierunek badań nad etiologią i predyspozycją genetyczno-wirusologiczną tego nowotworu.
2. Zintegrowane, wielopoziomowe ujęcie patogenezы - połączenie danych z modeli komórkowych, pierwotnych hodowli, tkanek nowotworowych, analiz genetycznych i profilu cytokin, które razem tworzą spójny obraz zaburzeń szlaków sygnałowych i odpowiedzi immunologicznej w raku jajnika.



Pragnę nadmienić, że wspomniane przeze mnie słabsze strony rozprawy w żadnym razie nie osłabiają jej bardzo wysokiego poziomu. Jednocześnie – rozprawa doktorska Pani mgr Darii Haręży potwierdza Jej gotowość do samodzielnego prowadzenia prac badawczych.

Wnioski końcowe

Reasumując, stwierdzam, że przedstawiona przez Panią mgr Darię Harężę rozprawa doktorska spełnia wymogi stawiane rozprawom doktorskim zgodnie z art. 187 ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. 2022 poz. 574 ze zm.), w związku z czym zwracam się do Rady Naukowej Instytutu Biologii Medycznej PAN w Łodzi z wnioskiem o dopuszczenie Pani mgr Darii Haręży do dalszych etapów postępowania ws. nadania stopnia doktora w dziedzinie nauk medycznych i nauk o zdrowiu w dyscyplinie nauki medyczne.

Ponadto, biorąc pod uwagę oryginalność, bardzo wysoki poziom merytoryczny rozprawy doktorskiej oraz jej ogromne znaczenie aplikacyjne wnioskuję o wyróżnienie przedstawionej pracy stosowną nagrodą.

Prof. dr hab. Agnieszka Szuster-Ciesielska

Katedra
Wirusologii i Immunologii UMCS

prof. dr hab. Agnieszka Szuster-Ciesielska

