

Warszawa, 25.08.2025

Recenzja rozprawy doktorskiej

pt. „*Testing of cation carriers as prospective therapeutic agents for the treatment of B-cell-derived malignancies*”

mgr Aleksandry Zdanowicz

Rozprawa doktorska mgr Aleksandry Zdanowicz – na stopień doktora nauk medycznych i nauk o zdrowiu w dyscyplinie nauki farmaceutyczne - liczy 347 strony, z czego część główna obejmuje wprowadzenie i cele pracy do strony 19, następnie przedruk publikacji stanowiących rozprawę – od strony 21 do 296, i w końcu podsumowanie i wnioski – strony 297 do 301. Do tezy załączone są oświadczenia współautorów określające udział doktorantki w publikacjach stanowiących podstawę tezy. W pierwszej załączonej publikacji – badawczej - doktorantka jest drugą autorką; w pracy drugiej – pogładowej – pierwszą autorką; a w pracy trzeciej – badawczej – autorką pierwszą. Badania do tezy były częściowo finansowane w ramach grantu Narodowego Centrum Nauki Nr 2019/35/B/NZ5/01445 („*Testing of cation carrier derivatives as prospective therapeutic agents for the treatment of B-cell-derived malignancies*”) realizowanego pod kierownictwem dr Beaty Pyrzyńskiej – pani ko-promotor pracy.

Rozprawa mgr Aleksandry Zdanowicz koncentruje się na badaniu potencjału nośników kationowych, ze szczególnym uwzględnieniem salinomycyny, jako nowych modulatorów terapii chorób nowotworowych wywodzących się z limfocytów B. Autorka w pracy przyjęła jasną główną hipotezę główną: nośniki kationowe, takie jak salinomycyna, mogą zwiększać ekspresję antygenu CD20 na powierzchni komórek nowotworowych wywodzących się z limfocytów B, a tym samym zwiększać skuteczność immunoterapii anti-CD20. W tezie pojawiają się także hipotezy pomocnicze, dotyczące roli nośników kationowych w regulacji szlaków sygnałowych (MYC, FOXO1) oraz ich wpływu na metabolizm mitochondrialny. Łącznie można więc w tezie wskazać hipotezę główną tezy i 2 hipotezy pomocnicze. Cele pracy zostały jasno opisane przez mgr Zdanowicz w rozdziale „Aim of the thesis”. Wymieniła ona 5

szczegółowych celów podstawowych (dotyczących badania zdolności nośników kationowych do regulacji CD20 w modelach *in vitro*, *ex vivo* i *in vivo*, analizy mechanizmów molekularnych, oceny skuteczności w terapii skojarzonej z rytuksymabem oraz oceny aktywności wobec CAR-T) oraz 5 celów drugorzędowych (dotyczących roli mitochondriów, metabolizmu i bioenergetyki komórkowej). Łącznie w tezie zostało opisane 10 celów pracy.

Wyniki zaprezentowane w przedrukowanych publikacjach odpowiadają zdefiniowanym celom tezy. W pracach udowodniono zdolność salinomycyny i innych nośników kationowych do zwiększania ekspresji CD20 w liniach komórkowych i komórkach pacjentów, wykazano ich synergizm z przeciwciałami anti-CD20 oraz z CAR-T. Wyniki zostały uzyskane zarówno w warunkach *in vitro*, *ex vivo*, jak i w modelach mysich *in vivo*. Prace badawcze doktorantki pozwoliły także zidentyfikować molekularny mechanizm działania salinomycyny – zwiększenie ekspresji CD20 było związane z represją onkogenu MYC oraz aktywacją szlaku zależnego od FOXO1. Oprócz tego doktorantka wykazała wpływ nośników kationowych na metabolizm mitochondrialny i bioenergetykę komórek nowotworowych, co może dodatkowo sprzyjać ich działaniu przeciwnowotworowemu. W swoich badaniach doktorantka opisuje w końcu, iż ekspozycja komórek na salinomycynę zwiększa podatność na immunoterapię CAR-T, co także może mieć istotne znaczenie translacyjne. Otrzymane przez doktorantkę wyniki wskazują zatem na możliwość włączenia nośników kationowych jako adiuwantów do obecnie stosowanych terapii. Rozprawa przedstawia zatem innowacyjną koncepcję wykorzystania leków modulujących ekspresję antygenów powierzchniowych jako strategii poprawy skuteczności terapii nowotworów B-komórkowych.

Rozdziały wprowadzające (Background and justification of study research) świadczą o szerokiej wiedzy doktorantki w zakresie immunoterapii nowotworów B-komórkowych, biologii molekularnej oraz farmakologii związków jonoforowych. Jak wynika za załączonych publikacji w toku pracy nad rozprawą doktorską mgr Aleksandra Zdanowicz prowadziła badania zarówno na liniach komórkowych, jak i na komórkach pacjentów oraz w modelach zwierzęcych. Doktorantka wykorzystwała także różne linie nowotworowe wywodzące się z limfocytów B, takie jak linie chłoniaków nieziarniczych (między innymi Raji, SU-DHL-4 czy Ramos) oraz linie białaczek limfoblastycznych i chłoniaków grudkowych. Badania rozszerzono także na materiał biologiczny pochodzący bezpośrednio od pacjentów, obejmujący pierwotne komórki nowotworowe izolowane z próbek krwi obwodowej oraz szpiku kostnego chorych na przewlekłą białaczkę limfocytową i chłoniaki. Wyniki *in vitro* i *ex vivo* zostały następnie potwierdzone w modelach zwierzęcych *in vivo*, takich jak ksenoprzeszczepowe modele

chłoniaków B-komórkowych. Do realizacji założonych celów doktorantka wykorzystwała więc szerokie spektrum nowoczesnych technik biologii molekularnej i komórkowej. W szczególności wykorzystwała cytometrię przepływową do analizy ekspresji antygenu CD20 oraz innych markerów powierzchniowych w odpowiedzi na ekspozycję na nośniki kationowe. Z kolei techniki Western blot oraz ilościowy RT-PCR służyły do oceny zmian poziomu białek i ekspresji genów, ze szczególnym uwzględnieniem MYC, FOXO1 oraz BCL2. W celu potwierdzenia mechanizmów regulacyjnych w badaniach stosowano także technologię CRISPR/Cas9 do precyzyjnych modyfikacji genetycznych, a dzięki RNA-seq przeprowadzono globalną analizę transkryptomiczną, pozwalającą na całościową ocenę zmian w profilu ekspresji genów. Istotnym elementem badań były także analizy metabolomiczne i bioenergetyczne, które umożliwiły scharakteryzowanie wpływu nośników kationowych na funkcję mitochondriów i metabolizm komórek nowotworowych. Uzupełnieniem badań były testy cytotoksyczności i przeżywalności komórek, takie jak test MTT czy ocena apoptozy, które pozwoliły określić bezpośredni wpływ leków na żywotność komórek nowotworowych. Rozprawa zawiera zatem oryginalne rozwiązania problemu naukowego. Wnioski są logiczne i wynikają z przedstawionych badań. Wyniki mają znaczenie translacyjne i mogą stanowić podstawę do dalszych badań przedklinicznych i klinicznych, w tym podkreślono potencjał translacyjny nośników kationowych oraz oryginalny mechanizm regulacji CD20 poprzez represję MYC. Cele i wyniki są spójne z tytułem rozprawy i jej zakresem.

W rozprawie mgr Aleksandry Zdanowicz pojawiają się nieliczne błędy i potknięcia interpunkcyjne, typowe dla pracy pisanej w języku angielskim przez osobę niebędącą native speakerem. Nie są to jednak błędy poważne – nie zmieniają sensu zdań i nie utrudniają zrozumienia treści naukowej. Uwaga redakcyjna dotyczy opisywania w tezie wyników i wniosków przez doktorantkę jako „my”. Na etapie pracy doktorskiej wskazane jest opisanie co konkretnie zrobiła / opisała / wywnioskowała doktorantka, a nie cały zespół badawczy. Zarządzanie zespołem badawczym czy projektowy nie jest zadaniem doktorantki, więc należałoby w formie / treści rozróżnić wyraźnie tezę doktorską od publikacji i od autoreferatów habilitacyjnych. Ponadto suboptymalnym wyborem wydaje się wybranie do włączenia jako części tezy pracy mającej 24 (dwudziestu czterech!) współautorów. Trudno w takiej publikacji mówić o wiodącym udziale doktorantki w badaniu. Prestiż tezy mógłby być większy gdyby wszystkie publikacje złożone w tym postępowaniu były opublikowane w wydawnictwach o dłuższej (dłuższej) tradycji publikacyjnej.

Podsumowując rozprawa mgr Aleksandry Zdanowicz spełnia wszystkie kryteria rozprawy doktorskiej: zawiera jasno postawione hipotezy, precyzyjne cele, bogaty materiał badawczy, logiczne wnioski i oryginalne wyniki naukowe. Autorka udowodniła zdolność do samodzielnego prowadzenia badań i wykazała przygotowanie teoretyczne i praktyczne w dyscyplinie nauki farmaceutyczne.

Rozprawa doktorska spełnia warunki określone w art. 187 Ustawy z dnia 20 lipca 2018r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 2018 r. poz. 1668, z późniejszymi zmianami). Zwracam się więc do Rady Dyscypliny Nauk Farmaceutycznych Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego o dopuszczenie pani mgr Aleksandry Zdanowicz do dalszych etapów przewodu doktorskiego.



Prof. Anna Małgorzata Czarnecka, MD, PhD, MBA

Head of Department of Outpatient Chemotherapy
Maria Skłodowska-Curie National Research Institute of Oncology
Roentgena Str. 5 02-781 Warsaw Poland
Tel.: +48 22 546 29 49
E-mail: am.czarnecka@pib-nio.pl