



**KATEDRA I ZAKŁAD BIOCHEMII
I BIOLOGII MOLEKULARNEJ
UNIwersytet Medyczny w Lublinie**

20-093 Lublin, ul. dr W. Chodźki 1

tel. fax 48 (81) 742-37-93

Dział Obsługi Rady ds. Nauki i Doktorantów
WPISANO

30.09.2025

Lublin, 29.09.2025

Ocena rozprawy doktorskiej mgr **Aleksandry Zdanowicz** pt. „Testing of cation carriers as prospective therapeutic agents for the treatment of B-cell-derived malignancies”

Choroby nowotworowe są wyzwaniem współczesnej medycyny. Mimo ogromnego postępu w niektórych typach nowotworów układu limfatycznego leczenie nie przynosi oczekiwanych, dobrych rezultatów. W nowotworach hematologicznych wywodzących z limfocytów B przeciwciała monoklonalne w połączeniu ze schematami chemioterapii CHOP wykazują skuteczność w leczeniu takich chorób jak przewlekła białaczka limfocytowa (CLL) i chłoniaki nieziarnicze pochodzące z komórek B (B-NHL), w tym chłoniak Burkitta. W jednostkach tych celem molekularnym terapii spersonalizowanej jest m.in. antygen CD20, powszechnie występujący na powierzchni ckomórek białaczkowych. Problem pojawia się, gdy ekspresja CD20 jest niska, co znacząco ogranicza skuteczność leczenia przy użyciu przeciwciał.

Dlatego temat rozprawy doktorskiej Pani Aleksandry Zdanowicz dotyczący zastosowania nośników kationowych jako czynnika indukującego re-ekspresję antygenu CD20 w komórkach białaczkowych uważam za oryginalny i uzasadniony.

Wyniki rozprawy doktorskiej w postaci dwóch oryginalnych prac naukowych zostały opublikowane w 2025 roku w uznanych czasopismach międzynarodowych (Haematologica, International Journal of Molecular Sciences) z wysokim IF. Całość, dodając do tego publikację poglądową (2024, International Journal of Molecular Sciences), osiągnęła IF równy 18. Doktorantka jest pierwszym Autorem dwóch prac (oryginalnej – nr 3 cyklu i poglądowej) oraz dzieli pierwsze współautorstwo w jednej pracy oryginalnej, co świadczy o jej znaczącym wkładzie w ich wykonanie i przygotowanie do publikacji. Wraz z rozprawą zostały przesłane wymagane oświadczenia, a wymagana liczba współautorów wyraziła zgodę na wykorzystanie omawianych publikacji w pracy doktorskiej, określając szczegółowo

zakres prac wykonanych przez Panią mgr Aleksandrę Zdanowicz w poszczególnych artykułach.

Rozprawa o typowym układzie dla prac doktorskich liczy aż 347 stron i została napisana w języku angielskim i podzielona na 5 zasadniczych rozdziałów: **Background and justification of study Research** – będąca wprowadzeniem do zaproponowanych badań, a jednocześnie uzasadnieniem podjętego tematu; **Aim of the thesis** – czyli cele pracy; następnie przytoczeniem w całości kopii publikacji (**Reprint of publications constituting the doctoral dissertation**); streszczeniem wyników i sformułowaniem wniosków (**Summary and Conclusions**) oraz wspólne dla nich piśmiennictwo (**References**). Rozprawa zawiera również streszczenie pracy w języku polskim, została wzbogacona o wykaz używanych skrótów i symboli. Brakuje mi chociaż krótkiego zestawienia metod badawczych, określanych zwykle jako „Metody”, oraz klasycznej „Dyskusji”. Co prawda, elementy te znalazły się oczywiście w pracach oryginalnych, tym niemniej moim zdaniem korzystna dla całościowego obrazu rozprawy byłaby zbiorcza synteza obu prac oryginalnych. Tym bardziej, że o ile w pracy oryginalnej nr 3 cyklu (Int.J.Mol.Sci 2025) Doktorantka wykonała większość doświadczeń samodzielnie (oprócz eksperymentów metabolomicznych i ich analizy), to w pracy oryginalnej nr 3 cyklu (Haematologica 2025) była Autorką wybranych eksperymentów, choć na uwagę zasługuje jej pierwsze współautorstwo tego artykułu wśród 24 autorów pochodzących z różnych ośrodków krajowych i zagranicznych. Świadczy to o umiejętności pracy w międzynarodowym zespole badawczym. Istotne podkreślenia jest również finansowanie jej badań ze środków uzyskanych z grantu NCN.

Cele badawcze pracy sformułowane są przejrzyście i ambitnie. Obydwa artykuły oryginalne ukazały się w prestiżowych czasopismach naukowych o wysokim współczynniku wpływu IF, co już samo z siebie świadczy o istotności podejmowanych w nich zagadnień i jakości przeprowadzonych badań. Rozprawa zawiera również pracę poglądową omawiającą współzależność procesu autofagii i funkcji mitochondriów.

W rozprawie zamieszczono przedruki prac będących jej podstawą:

1. [Potassium/sodium cation carriers robustly upregulate CD20 antigen by targeting MYC, and synergize with anti- CD20 immunotherapies to eliminate malignant B cells.](#) Torun A, **Zdanowicz A**, Miazek-Zapala N, Zapala P, Pradhan B, Jedrzejczyk M, Ciechanowicz A, Pilch Z, Skorzynski M, Stabicki M, Rymkiewicz G, Barankiewicz J, Martines C, Laurenti L, Struga M, Winiarska M, Golab J, Kucia M, Ratajczak MZ, Huczynski A, Calado DP, Efremov DG, Zerrouqi A, Pyrzynska B. Haematologica. 2025 Jul 1;110(7):1555-1572. doi: 10.3324/haematol.2024.285826. PMID: 39704178 (IF=8.2; MEiN: 140) (AT and AZ contributed equally as co-first authors)
2. [The Interplay between Autophagy and Mitochondria in Cancer.](#) **Zdanowicz A**, Grosicka-Maciąg E. Int J Mol Sci. 2024 Aug 23;25(17):9143. doi: 10.3390/ijms25179143. PMID: 39273093

3. [Low-Dose Salinomycin Alters Mitochondrial Function and Reprograms Global Metabolism in Burkitt Lymphoma](#). **Zdanowicz A**, Ilchenko O, Ciechanowicz A, Chi H, Struga M, Pyrzynska B. *Int J Mol Sci*. 2025 May 27;26(11):5125. doi: 10.3390/ijms26115125. PMID: 40507936

Przedruki wymienionych prac, szczególnie pierwszej z nich, zajmują zdecydowaną część rozprawy, gdyż wraz z danymi zaprezentowanymi jako suplementarne, zajmują 278 z 347 stron rozprawy.

Krótkie wprowadzenie w tematykę rozprawy na stronach 13-17 zaczyna się omówieniem antygenu CD20 jako celu terapeutycznego przy pomocy specyficznych przeciwciał (rytuksymab – RTX, p-ciała bispecyficzne) w wybranych nowotworach wywodzących się z limfocytów B. Doktorantka podnosi też temat oporności tych nowotworów na tego typu leczenie związane ze zmniejszoną ekspresją CD20 u części pacjentów, czego rozwiązaniem mogą być różne czynniki powodujące zwiększenie obecności CD20 na powierzchni komórek. Na podstawie piśmiennictwa podaje przykłady zastosowania tego typu substancji w terapiach eksperymentalnych, które indukują CD20 za pomocą różnych mechanizmów – aktywacji poszczególnych szlaków sygnałowych, czy też na poziomie epigenetycznym – poprzez zmiany w acetylacji histonów. W tej części dysertacji brakuje mi jednak biochemicznej charakterystyki CD20 jako białka, jak również opisanie roli tego antygenu w procesach fizjologicznych. Doktorantka omawia następnie nośniki kationowe, zwracając szczególną uwagę na salinomycynę (SAL) jej budowę chemiczną i wewnątrzkomórkowe mechanizmy działania. Podaje tu liczne przykłady potencjalnych zastosowań SAL w terapii onkologicznej na poziomie badań in vitro oraz in vivo względem różnych typów nowotworów. Szerzej omawia mechanizm autofagii powiązany ze stosowaniem SAL, sugerując zaburzenie homeostazy mitochondriów jako efekt jej działania. Temat autofagii i funkcji mitochondriów w aspekcie ich specyfiki w fizjologii i metabolizmie komórek nowotworowych Doktorantka szczegółowo opisuje w pracy poglądowej (nr 2 cyklu, *Int. J. Mol. Sci.* 2024). Zwraca tam uwagę na dualną rolę autofagii w kancerogenezie, co może prowadzić albo do supresji, albo do promocji rozrostu nowotworowego, szczegółowo omawiając te mechanizmy na poziomie komórkowym i molekularnym, zaznaczając potencjalne możliwości terapeutyczne, wykorzystujące zmieniony metabolizm komórki nowotworowej. Wskazuje na leki lub substancje które zmieniają homeostazę mitochondriów, m.in. poprzez wpływ na poszczególne kompleksy łańcucha oddechowego czy enzymy cyklu Krebsa. Sugeruje też potencjalne korzyści połączenia modulatorów procesu autofagii z radio- lub/i chemioterapią w leczeniu nowotworów podając przy tym, które substancje znajdują się w określonych fazach badań klinicznych. Dodatkowo zakłada, że ekspresja niektórych

genów i białek związanych ze zjawiskiem autofagii może znaleźć zastosowanie jako biomarkery procesu nowotworowego

We wprowadzeniu Doktorantka omawia też możliwe toksyczne właściwości SAL w stosunku do narządów i komórek różnych organizmów zwierzęcych, wspomina też o wstępnych badaniach klinicznych pacjentów, gdzie zastosowanie SAL prowadziło do redukcji przerzutów przy niezbyt nasilonych działaniach niepożądanych tej substancji. Stanowi to dobry punkt wyjścia do dalszych badań nad efektywnością SAL w terapii onkologicznej.

W pracy nr 3 cyklu (Int.J.Mol.Sci. 2025) używając niskich stężeń SAL wykazała jej wpływ na zaburzenie potencjału błonowego mitochondriów i indukcję stresu oksydacyjnego w linii komórkowej chłoniaka Burkitta. Pewne zastrzeżenia co do tej pracy może budzić użycie tylko jednej linii komórkowej w badaniach, co może świadczyć, że obserwowane zmiany mogą być specyficzne tylko dla tej linii, a nie chłoniaka Burkitta jako jednostki chorobowej, do czego odnosi się tytuł tej publikacji.

W odróżnieniu od publikacji nr 3, pierwsza publikacja cyklu (Haematologica 2025) analizuje szereg linii komórkowych, w tym, co szczególnie zasługuje na podkreślenie – linie komórek pierwotnych, których właściwości i metabolizm różnią się czasami dość znacznie w stosunku do pasażowanych przez wiele lat stabilnych linii komórkowych. Praca ta jest bardzo zaawansowana metodycznie, Doktorantka jest Autorką 7 rycin lub ich fragmentów w głównym tekście pracy oraz 9 rycin zamieszczonych w suplemencie, co odzwierciedla jej kluczową rolę jako jednego z dwóch pierwszych autorów publikacji. Należy zwrócić uwagę na przemyślany dobór metod badawczych i modeli eksperymentalnych, Doktorantka wykonywała testy cytotoksyczności, Western Blotting, qPCR, opanowała techniki cytometrii przepływowej oraz immunoprecypitacji chromatyny. Prezentowane wyniki, które są udziałem Doktorantki, nie budzą zastrzeżeń. W dość szczegółowo rozpisanych celach rozprawy doktorskiej ujęła ona również te elementy, które nie znalazły się w opisie rycin bezpośrednio przez nią wykonywanych lub być może wykonanych przy zasadniczym współudziale innych współautorów (badania in vivo, badania metabolomiczne). Wymaga to doprecyzowania podczas obrony. Opublikowanie pracy w „Haematologica” świadczy o tym, że przeszła ona już bardzo surową ocenę recenzentów, trudno więc o dodatkowe uwagi krytyczne. Na podkreślenie zasługują wykonane przez Doktorantkę eksperymenty immunoprecypitacji chromatyny, dowodzące, że onkogen MYC wiąże się bezpośrednio z regionem promotorowym MS4A1, a przez to reguluje transkrypcję genu kodującego CD20. Doktorantka wykonała też wiele badań walidujących eksperymenty na poziomie molekularnym poprzez analizy Western-blotting, qPCR, czy cytometrii, co było niezbędne do publikacji artykułu.

Dyskusja przedstawionej do recenzji dysertacji jest zawarta w oryginalnych publikacjach w języku angielskim. Świadczy ona o swobodnym poruszaniu się Autorki w

zagadnieniu będącym przedmiotem rozprawy doktorskiej. Zawarte w dyskusji informacje w sposób rzeczowy i wiarygodny porównują uzyskanie wyniki z danymi zaczerpniętymi z piśmiennictwa. Pewien niedosyt może budzić fakt braku dyskusji zintegrowanych wyników z 2 prac oryginalnych stanowiących rozprawę doktorską. Uważam, że rozwinięcie zamieszczonego przez Doktorantkę rozdziału **Podsumowanie i Wnioski** jako dyskusji byłoby dobrym rozwiązaniem zamiast ponownego streszczania wyników poszczególnych prac. **Wnioski** są zresztą zaznaczone dodatkowo jako oddzielny podrozdział. Moim zdaniem są one zbyt rozbudowane, ponownie zawierają opis wyników i metodyki. Powinny być bardziej jednoznacznym stwierdzeniem wynikającym z wyników, a nie ponownie je opisującym.

Piśmiennictwo zawierające 42 pozycje (oprócz piśmiennictwa zawartego w poszczególnych publikacjach) jest adekwatne i świadczy o umiejętności selekcjonowania istotnych informacji związanych z podjętym tematem badań. Umieszczone pozycje piśmiennictwa są aktualne i znajdują się w bazach danych czasopism naukowych.

Konkludując stwierdzam, że przedmiot prowadzonych badań, dobór metod, prezentacja wyników, oraz uzyskane wnioski odpowiadają kryteriom stawianym pracom doktorskim. „**Rozprawa doktorska spełnia warunki określone w art. 187 Ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. 2018 poz. 1668)**”

W związku z powyższym przedkładam Wysokiej Radzie Dyscypliny Nauk Farmaceutycznych Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego wniosek o dopuszczenie Pani mgr Aleksandry Zdanowicz do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Z poważaniem:



Andrzej Stepulak

