



Katedra i Klinika Hematologii, Transplantologii i Chorób Wewnętrznych

Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego

Kierownik: Prof. dr hab. med. Grzegorz W. Basak

ul. Banacha 1a, 02-097 Warszawa

Tel. 022-599-28-18; fax: 022-599-14-18; e-mail: hematologia@wum.edu.pl

Warszawa, dnia 09.09.2025

Prof. dr hab. med. Krzysztof Jamrozik
Klinika Hematologii, Transplantologii i Chorób Wewnętrznych
Warszawski Uniwersytet Medyczny
ul. Banacha 1A
02-097 Warszawa

OCENA

rozprawy doktorskiej mgr Marty Pelon pt. „Rola gankyriny jako modulatora działania leków przeciwszpizczakowych”

Rozprawa doktorska mgr Marty Pelon podejmuje aktualny i ważny problem badawczy w hematologii eksperymentalnej, jakim jest rola gankyriny (PSMD10) w biologii szpiczaka plazmocytoowego oraz jej potencjalny wpływ na efektywność leczenia przeciwnowotworowego. Szpiczak plazmocytoowy należy do najczęstszych nowotworów hematologicznych i pomimo postępu terapeutycznego dokonanego w ostatnich dwóch dekadach pozostaje chorobą nawrotową i nieuleczalną. Jednym z kluczowych problemów klinicznych w obszarze terapii szpiczaka plazmocytoowego jest rozwój oporności na stosowane leki, w tym inhibitory proteasomu i leki immunomodulujące. W tym kontekście, badania nad nowymi regulatorami molekularnymi, takimi jak gankyrina – białko znane m.in. z udziału w procesach degradacji białek i w onkogenezie nowotworów litych – są szczególnie istotne. Podjęta przez Doktorantkę tematyka ma zatem zarówno znaczenie poznawcze, jak i potencjalnie aplikacyjne.

Przedstawiona do oceny praca ma układ typowy dla rozpraw doktorskich posiadających formę monografii i zawiera 112 strony maszynopisu. Struktura pracy jest klasyczna i przejrzysta. Rozprawa składa się z rozdziałów obejmujących: streszczenie w języku polskim i angielskim, szczegółowe wprowadzenie, cel pracy, opis zastosowanych materiałów i metod badawczych,

wyniki oraz dyskusję uzyskanych wyników i wnioski. Częścią rozprawy jest również obszerna bibliografia uwzględniająca 164 pozycji piśmiennictwa. Ponadto, w pracy zawarto 36 rycin i 14 tabel, które poprawiają rozumienie tekstu. Całość została napisana poprawnym językiem naukowym, a układ logiczny pracy ułatwia śledzenie toku badań i analizy i dyskusji wyników.

W liczącym 14 strony wstępie Doktorantka szczegółowo omawia patogenezę szpiczaka plazmocytozy, z podkreśleniem roli mikrośrodowiska szpiku, interakcji komórek nowotworowych ze podścieliskiem oraz szlaków sygnałowych wpływających na proliferację i przeżycie plazmocytozy nowotworowych. Obszerne fragmenty poświęcono mechanizmom działania proteasomu i immunoproteasomu oraz klinicznemu znaczeniu inhibitorów proteasomu i leków immunomodulujących. Wprowadzenie zawiera także aktualny przegląd wiedzy dotyczący gankyriny, której rola w szpiczaku plazmocytozy dotychczas nie była szerzej badana. Podsumowanie literatury jest staranne, obejmuje ponad 70 pozycji, w tym najnowsze publikacje z wiodących czasopism.

Następnie Doktorantka przedstawia cele pracy. Głównym celem rozprawy była ocena roli gankyriny jako potencjalnego modulatora działania leków przeciwszpiczakowych. Cele szczegółowe obejmowały: ocenę ekspresji gankyriny w liniach komórkowych i próbkach klinicznych szpiczaka plazmocytozy, analizę wpływu manipulacji poziomu gankyriny (knockdown i nadekspresja) na wrażliwość komórek na bortezomib i lenalidomid, a także zbadanie mechanizmów molekularnych związanych z tym zjawiskiem.

W liczącym 11 strony rozdziale „Materiały” scharakteryzowano zastosowane w badaniach linie komórkowe i próbki biologiczne od pacjentów. W swoich badaniach Autorka wykorzystała osiem linii komórkowych szpiczaka plazmocytozy (m.in. U266, RPMI-8226, JJN3, OPM-2) oraz 24 próbki szpiku pacjentów ze szpiczakiem plazmocytozy, którzy byli leczeni w Instytucie Hematologii i Transfuzjologii w Warszawie. Materiał kliniczny obejmował próbki od chorych o zróżnicowanym przebiegu klinicznym, co pozwoliło na wstępną ocenę korelacji między poziomem ekspresji gankyriny a przeżyciem całkowitym pacjentów.

W rozdziale „Metody” Doktorantka opisuje zastosowane nowoczesne metody biologii molekularnej i komórkowej, obejmujące m.in.: transfekcje plazmidów i siRNA w liniach komórkowych, RT-qPCR (TaqMan) do oceny ekspresji mRNA, Western blot do analizy ekspresji białek, cytometrię przepływową z oznaczeniem Annexin V/PI do oceny apoptozy, testy cytotoksyczności (MTT, CellTiter-Glo), immunofluorescencję. Opisano również metodykę przeprowadzonych analiz statystycznych (test t-Studenta, ANOVA, analiza przeżycia Kaplana–Meiera). Zastosowanie tak szerokiego panelu metod pozwoliło na uzyskanie wiarygodnych i powtarzalnych wyników.

Rozdział „Wyniki” stanowi najobszerniejszą część rozprawy (38 strony). Mgr Pelon wykazała, że ekspresja gankyriny różni się istotnie między poszczególnymi liniami komórkowymi szpiczaka plazmocytozy – najwyższa ekspresja była obecna w liniach OPM-2 i JJN3, najniższa w U266. W próbkach klinicznych wysoka ekspresja gankyriny korelowała z krótszym czasem przeżycia całkowitego pacjentów. Ponadto, manipulacje poziomem gankyriny miały istotny wpływ na odpowiedź komórek nowotworowych na bortezomib i lenalidomid – knockdown zwiększał ich skuteczność, a nadekspresja gankyriny zmniejszała wrażliwość komórek na leczenie. Doktorantka wykazała również, że gankyrina wpływa na aktywność szlaków apoptotycznych (Bcl-2, kaspaza-3) oraz na markery stresu siateczki endoplazmatycznej (CHOP, XBP1s).

W „Dyskusji” Doktorantka trafnie zestawiała własne wyniki z aktualnym piśmiennictwem światowym, wskazując zarówno ich zgodność z dotychczasowymi obserwacjami, jak i nowe

aspekty, które wnosi rozprawa. Podkreślono potencjalne znaczenie gankyriny jako markera prognostycznego i celu w terapii szpiczaka plazmocytoowego. Krytycznie omówiono także ograniczenia badań, w tym niewielką liczbę próbek klinicznych oraz brak badań *in vivo*.

Na podstawie przeprowadzonych badań mgr Pelon sformułowała wnioski, które są logiczne i wynikają bezpośrednio z uzyskanych danych. Podkreślają rolę gankyriny jako modulatora działania leków przeciwszpiczakowych oraz wskazują kierunki dalszych badań, w tym możliwość farmakologicznej inhibicji gankyriny.

W mojej opinii Rozprawa doktorska mgr Marty Pelon pt. „Rola gankyriny jako modulatora działania leków przeciwszpiczakowych” jest wartościową i oryginalną pracą badawczą. Zawiera istotne i nowatorskie wyniki poszerzające wiedzę o mechanizmach lekooporności w szpiczaku plazmocytoowym. Do mocnych stron Rozprawy należą w szczególności: aktualna i ważna problematyka o dużym znaczeniu klinicznym, oryginalny charakter badań, szerokie zastosowanie nowoczesnych metod biologii molekularnej i komórkowej, spójne powiązanie wniosków z wynikami oraz potencjalna wartość aplikacyjna wyników (gankyrina jako biomarker predykcyjny i prognostyczny lub potencjalnie nowy cel terapii).

Po wnikliwej analizie rozprawy doktorskiej mgr Marty Pelon mam kilka uwag, które powinny być uwzględnione przed publikacją uzyskanych wyników:

1. Praca została dobrze przeprowadzona z uwzględnieniem różnorodnych metod badawczych *in vitro* i pod względem zakresu badań znacznie przekracza typowy poziom prac doktorskich. Pewnym ograniczeniem może być stosunkowo niewielka liczba próbek klinicznych (n=24). Przydatnym potwierdzeniem uzyskanych wyników byłyby eksperymenty *in vivo* (modele mysie szpiczaka), a także analiza mechanizmów epigenetycznych regulujących ekspresję gankyriny. Badania te mogą stanowić kontynuację pracy naukowej Doktorantki.
2. Rozprawa jest napisana poprawnym stylistycznie i naukowo językiem oraz dopracowana pod względem edytorskim. Doktorantka nie ustrzegła się jednak drobnych błędów w tym zakresie, które wymagają korekty:
 - s. 15: – „immunoproteason” zamiast „immunoproteasom”.
 - s. 46: skrót „RT-PCR” używany wymiennie z „qPCR” – wymaga ujednolicenia.
 - s. 53: zdanie „Bortezomib zwiększał żywotność w linii U266” – zapewne chodziło o „zmniejszał”.
 - s. 89: niekonsekwencja w zapisie nazwy genu – „Xbp1s” i „XBP1s”.

Powyższe drobne uwagi nie mają wpływu na moją bardzo wysoką ocenę rozprawy doktorskiej mgr Marty Pelon. Została ona napisana poprawnie pod względem językowym, a uzyskane wyniki i sformułowane wnioski zostały dobrze udokumentowane. Doktorantka zrealizowała założony cel pracy w oparciu o doskonały warsztat naukowy, szeroko wykorzystując odpowiednie techniki badawcze oraz metody analizy statystycznej, co świadczy o wysokiej dojrzałości naukowej. Jestem przekonany, że praca doktorska mgr Marty Pelon stanowi samodzielne rozwiązanie ważnego problemu naukowego. Praca ma szereg aspektów poznawczych, a uzyskane wyniki stanowią podstawę do dalszych badań i mogą przyczynić się do poprawy leczenia szpiczaka plazmocytoowego

Podsumowując, uważam, że przedstawiona mi do oceny rozprawa doktorska spełnia warunki określone w Ustawie z dnia 20 lipca 2018 r. – Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce

Ze względu na wysoką jakość przeprowadzonych badań, duże znaczenie naukowe i kliniczne uzyskanych wyników oraz doskonałe przygotowanie rozprawy doktorskiej wnioskuję o wyróżnienie pracy.

14th March