

Warszawa, 21.01. 2025

Prof. dr hab. Przemysław Juszczynski  
Zastępca Dyrektora ds. Nauki  
Kierownik Zakładu Hematologii Eksperymentalnej  
Instytut Hematologii i Transfuzjologii  
ul. Indiry Gandhi 14  
02-776 Warszawa

Ocena dorobku naukowego Pani dr Pauliny Podszywałow-Bartnickiej w ramach prowadzonego postępowania o nadanie stopnia doktor habilitowanej na podstawie osiągnięcia naukowego pt. **„Regulacja i znaczenie zmian w proteomie komórek przewlekłej białaczki szpikowej w progresji nowotworu i oporności na terapię w mikrośrodowisku szpiku.”**

#### **I. Dane biograficzne i przebieg pracy zawodowej.**

Dr Paulina Podszywałow-Bartnicka jest z wykształcenia biologiem. Ukończyła studia magisterskie na wydziale biologii Uniwersytetu Warszawskiego (specjalizacja: biochemia). Pracę doktorską obroniła w 2009 r. w Instytucie Biologii Doświadczalnej im. M. Nenckiego PAN w Warszawie na podstawie rozprawy “Udział izoform aneksyny A6 w regulacji zależnego od Ca<sup>2+</sup> wydzielania katecholamin”. Aktualnie pracuje w Pracowni Cytometrii w Instytucie Biologii Doświadczalnej im. M. Nenckiego PAN na stanowisku adiunkta. Odbiła liczne staże zagraniczne, w tym:

- Yale University, New Haven, USA, 06/2023-06/2025
- **Fulbright Senior Award** Yale University, New Haven, USA, 08/2022-06/2023
- Szpital Uniwersytecki w Bonn, Niemcy, 06/2018 9 dni
- Temple University School of Medicine, Philadelphia, PA, USA, 2013-2017 – łącznie 9 miesięcy
- Medical Research Council Toxicology Unit, Leicester, UK, **7FP UE travel fellowship BIO-IMAGINE** 07-08/2011

Na podstawie analizy tej części życiorysu naukowego Dr Podszywałow-Bartnickiej należy zatem stwierdzić iż dwa kryteria stawiane kandydatom do nadania stopnia doktora habilitowanego wg Art. 219 ustawy Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce – posiada stopień doktora oraz wykazuje się aktywnością naukową realizowaną w więcej niż jednej uczelni, instytucji naukowej lub instytucji kultury, w szczególności zagranicznej. Analiza publikacji autorstwa lub współautorstwa

dr Podszywałow Bartnickiej wskazuje, że dorobek powstały w wyniku prac na innych uczelniach ma „istotny” charakter.

## II. Ocena osiągnięcia naukowego

W skład dorobku naukowego dr Podszywałow-Bartnickiej wchodzi cykl 8 publikacji powiązanych tematycznie, który dr Paulina Podszywałow- Bartnicka przedstawiła do oceny jako swoje osiągnięcie, a ponadto 20 publikacji pełnotekstowych oraz 3 rozdziały w monografiach naukowych. Należy stwierdzić, że są to publikacje w czasopiśmie naukowych o wyjątkowej renomie, znanych z rygorystycznego procesu recenzji i wysokich standardów publikacyjnych (W tym Blood, Molecular Cancer Reserch, Mol Cancer Ther, J Clin Invest i inne).

Cykl publikacji powiązanych tematycznie, który dr Paulina Podszywałow -Bartnicka przedstawiła do oceny nosi tytuł „Regulacja i znaczenie zmian w proteomie komórek przewlekłej białaczki szpikowej w progresji nowotworu i oporności na terapię w mikrośrodowisku szpiku” i tworzy go siedem prac eksperymentalnych oraz jedna przeglądowa. Kandydatka nie ubiegała się wcześniej o nadanie stopnia doktor habilitowanej na podstawie tego osiągnięcia.

W sześciu z tych publikacji kandydatka jest pierwszą lub korespondującą autorką, a w dwóch – drugą autorką, co wskazuje na wiodący udział dr Podszywałow -Bartnickiej w ich powstaniu.

Osiągnięcie naukowe dr Podszywałow Bartnickiej można podzielić na 5 powiązanych ze sobą części/rozdziałów:

### **1. Zmiana regulacji translacji a obniżenie poziomu białka BRCA1 w progresji białaczki**

- Podszywałow-Bartnicka P et al., Cell Cycle 2014

- Wolczyk M, Podszywałow-Bartnicka P et al., BBA 2017

### **2. Wpływ zmiany regulacji translacji w komórkach białaczkowych na sekretom i zwiększenie mobilności komórek w progresji nowotworu**

- Podszywałow-Bartnicka P et al., Oncotarget 2016

### **3. Opracowanie metod hodowli i charakterystyka parametrów życiowych komórek w różnych warunkach mikrośrodowiska**

- Podszywałow-Bartnicka P et al., Cytometry Part A 2018

- Wolczyk M, ..., Podszywałow-Bartnicka P, iScience 2023 – autorka korespondencyjna

### **4. Poziom białek naprawy uszkodzeń DNA jako wskazanie do zastosowania inhibitorów PARP1 oraz element mechanizmu oporności na inhibitory PARP1 w mikrośrodowisku szpiku**

- Podszywałow-Bartnicka P et al., Cell Cycle 2014

- Podszywałow-Bartnicka P et al., Leuk Lymph 2019

- Le BV, Podszywałow-Bartnicka P et al., Cell Rep 2020

### **5. Wpływ mikrośrodowiska na regulację translacji i proteom komórek białaczkowych jako podstawa adaptacji do warunków otoczenia i oporności na terapię**

- Wolczyk M, ..., Podszywałow-Bartnicka P, iScience 2023 – autorka korespondencyjna

- Podszywałow-Bartnicka P, Neugebauer KM, RNA Biology 2024

Autorka w swoim osiągnięciu zajmuje się zmianami w regulacji translacji białek w komórkach przewlekłej białaczki szpikowej wywołanej działaniem onkogenów oraz interakcjami komórek przewlekłej białaczki szpikowej z mikrośrodowiskiem w warunkach naśladujących hipoksyjną niszę szpikową. Jest to bardzo istotne zagadnienie, gdyż mechanizmy te wpływają na żywotność komórek nowotworowych, sprzyjają progresji i tworzeniu przerzutów, wpływają na wrażliwość na leki, w tym immunoterapie. W pierwszej części osiągnięcia, autorka przedstawia wyniki badań dotyczących mechanizmów prowadzących do zmniejszenia poziomu białka BRCA1 i konsekwencji tego zjawiska dla komórek CML. Wykazano, że niski poziom BRCA1 w komórkach CML, zależny od aktywności Bcr-Abl1 i w konsekwencji prowadzi do zaburzeń integralności genomu. Zidentyfikowano zależny od białek HuR i TIAR mechanizm regulacji stabilności RNA i regulacji translacji. Badania te ujawniły również znaczenie fosforylacji eIF2a w adaptacji komórek do stresu oraz ich oporności na leczenie. Wyniki te zostały włączone do rozpraw doktorskich współpracowników i posłużyły jako podstawa nowych projektów badawczych, ukazując istotną rolę mechanizmów potranskrypcyjnych w progresji CML oraz potencjalne strategie terapeutyczne.

W drugiej części osiągnięcia autorka przedstawia wyniki swoich badań, realizowanych m.in. w trakcie stażu podoktorskiego, dotyczące wpływu fosforylacji eIF2a na translację i oddziaływania międzykomórkowe komórek CML z podścieliskiem. Wykorzystano model komórek K562 z mutacjami eIF2a oraz zaawansowane metody proteomiczne, takie jak znakowanie białek SILAC. Odkryto, że fosforylacja eIF2a zwiększa wydzielanie enzymów, takich jak metaloproteinazy, które wspierają degradację macierzy zewnątrzkomórkowej (ECM) i migrację komórek. Ponadto, badania wskazały na rolę transkrypcyjnego czynnika ATF4 w regulacji inwazyjności komórek. Dalsze eksperymenty ujawniły, że mikrośrodowisko szpiku, bogate w cytokiny i czynniki wzrostowe, sprzyja oporności komórek nowotworowych na leczenie, np. Imatinibem. Hipoksja i stymulacja receptorów, takich jak CXCR4, zwiększają przeżywalność białaczkowych komórek macierzystych (LSC). Wyniki posłużyły do stworzenia modeli badawczych *ex vivo*, umożliwiających analizę interakcji komórek w stabilnych warunkach hipoksji, co stało się podstawą kolejnych projektów naukowych.

Trzecia część osiągnięcia dotyczy badań, które miały na celu opracowanie metod hodowli i charakterystykę parametrów życiowych komórek w różnych warunkach mikrośrodowiska. W badaniu scharakteryzowano wpływ różnych warunków hodowli na komórki CML i fibroblasty szpiku. Stworzono model obejmujący ko-kultury w warunkach hipoksji (1,5% tlenu), które odzwierciedlają mikrośrodowisko szpiku. Wykazano, że interakcja komórek CML z fibroblastami chroniła przed apoptozą indukowaną przez hipoksję oraz zmniejszała skuteczność Imatinibu. Wyniki podkreślają rolę mikrośrodowiska w oporności na terapię.

W czwartej części osiągnięcia Autorka przedstawia badania, które dotyczyły zastosowania inhibitorów PARP1 w leczeniu CML oraz ostrej białaczki szpikowej (AML). Wykazano, że komórki białaczkowe z obniżonym poziomem białek BRCA1/BRCA2 są wrażliwe na inhibitory PARP1, co prowadzi do uszkodzeń DNA i zwiększonej śmiertelności komórek. Połączenie inhibitorów PARP1 z Imatinibem obniżało potencjał klonogenny komórek i ograniczało rozwój

białaczki w modelach mysich. Mikrośrodowisko szpiku odgrywało kluczową rolę w oporności na olaparib, co związane było z czynnikiem wzrostu TGF $\beta$  i szlakiem Smad2/3. Uzyskane wyniki pokazują, że nie tylko mutacje, ale również zmiany w proteomie i wpływ mikrośrodowiska determinują skuteczność terapii. Projekt obejmował rozwój nowatorskiego modelu *in vivo* z humanizowaną niszą szpiku kostnego, który ma potencjał do badań nad opornością na terapie białaczek.

Ostatnia – piąta część osiągnięcia stanowi kontynuację badań wpływu mikrośrodowiska na biologię komórek białczkowych i ich oporność na terapię. Stwierdzono, że hipoksja hamuje translację białek, stymuluje fosforylację eIF2 $\alpha$  oraz modyfikuje aktywność enzymów metabolicznych wspomagających adaptację komórek do hipoksji oraz szlaki sygnałowe, m.in. związane z receptorem TGF $\beta$  i naprawą DNA. Zastosowano techniki QuaNCAT i SILAC do szczegółowego badania zmian w proteomie komórek. Szczególną rolę w regulacji translacji przypisano białkom wiążącym RNA, takim jak TIAR i FMRP, które wpływają na selektywność translacji i odpowiedź na stres. Wyciszenie TIAR uwrażliwiało komórki na homoharringtoninę w hipoksji, wskazując na znaczenie tego białka w oporności na leczenie. Badania te sugerują ponadto potencjał terapeutyczny modyfikatorów regulacji potranskrypcyjnej.

Należy podkreślić, że badania autorki charakteryzują się głębokim wglądem w mechanizmy badanych zjawisk, bardzo poprawną i nowoczesną metodyką, dbałością o szczegóły, rygorystyczną weryfikacją stawianych hipotez i trudno im zarzucić jakieś istotne braki.

Jako recenzentowi nasuwa mi się jednak kilka pytań:

1. Na interakcje z mikrośrodowiskiem wpływają oczywiście białka sekrecyjne ale również powierzchniowe. Autorka nie oceniała jednak białek surfaceomu – szkoda, byłby to wartościowy element. Czy autorka dysponuje jakimiś wynikami dotyczącymi tego zagadnienia?
2. Poza połączeniem imatynibu z olaparibem, nie ma badań *in vivo*. Brakuje mi nieco modeli zwierzęcych potwierdzających obserwacje z badań *in vitro*.
3. Połączenie Olaparibu z Imatynibem jest kontrintuicyjne – skoro zahamowanie kinazy BCR-ABL1 podnosi ekspresję BRCA1 poprzez zwiększenie ilości mRNA ulegającego translacji, to jak tłumaczyć synergię olaparibu z imatynibem?
1. Na stronie 12 Autoreferatu, autorka pisze, że „w komórkach CML (linie K562 i Lama-84) oddziaływanie z fibroblastami powodowało zwiększenie odsetka komórek w fazie G0/G1 cyklu komórkowego...”. Z której ryciny publikacji to wynika? Nie odnalazłem właściwych danych potwierdzających to twierdzenie.
2. Kilka pomyłek merytorycznych:
  - a. Str. 11: „Warunki obniżonego poziomu tlenu wywołują zmiany metaboliczne w komórkach nowotworowych zwane efektem Warburga”. Efekt Warburga w komórkach nowotworowych zachodzi także w warunkach atmosferycznego stężenia tlenu.

- b. Str. 11: oraz „chroniczna białaczka limfoblastyczna” – nie ma takiej jednostki, jest ostra białaczka limfoblastyczna lub przewlekła białaczka limfocytowa
- c. Str 13: „Jednak mutacje białek zaangażowanych w detekcję i naprawę DNA nie są charakterystyczne dla białaczek”; to twierdzenie również nie jest prawdziwe – są to typowe zaburzenia na przykład w CLL

Poza podstawową dla niniejszej oceny działalnością naukową, autorka wykazuje się dużą aktywnością organizacyjną, popularyzatorską, opieką nad dyplomantami/doktorantami.

### **Podsumowanie:**

Osiągnięcie naukowe Pani dr **Pauliny Podszywałow-Bartnickiej** składa się z cyklu powiązanych ze sobą 8 prac, powstałych przy powstałym przy wiodącym udziale habilitantki w wyniku współpracy międzyośrodkowej i realizowanych staży w uczelniach zagranicznych. Ich wartość naukowa oceniam bardzo wysoko – badania Autorki są rozwijane, kontynuowane i dobrze cutowane.

Reasumując, wkład dr **Pauliny Podszywałow-Bartnickiej** w rozwój swojej dyscypliny naukowej może zostać uznany jako znaczący i był realizowany w więcej niż jednej instytucji, a zatem osiągnięcie naukowe Dr **Pauliny Podszywałow-Bartnickiej** spełnia warunki określonych w art. 219 ust.1 i 2 Ustawy Prawo o Szkolnictwie Wyższym i Nauce z dnia 20 lipca 2018 roku (Dz. U. z 2021 r. poz.478 z późn. zm.) do nadania stopnia naukowego doktora habilitowanego w dziedzinie nauk **ścisłych i przyrodniczych** w dyscyplinie **nauki biologiczne**.

Z poważaniem,

Przemysław Juszczynski