

Warszawa, 19.01.2026 r.

prof. dr hab. Tomasz Sarnowski

Kierownik

Pracowni Regulacji Ekspresji Genów

Instytut Biochemii i Biofizyki

Polskiej Akademii Nauk

ul. Pawińskiego 5A, 02-106 Warszawa

tsarn@ibb.waw.pl

**Recenzja rozprawy doktorskiej mgr Karoliny Gronkowskiej
pt. „Rola kompleksu SWI/SNF-EP300 w powstawaniu oporności
komórek nowotworowych na chemioterapię”**

Przedstawiona do recenzji rozprawa doktorska mgr Karoliny Gronkowskiej pt. „**Rola kompleksu SWI/SNF-EP300 w powstawaniu oporności komórek nowotworowych na chemioterapię**” została wykonana w ramach uczestnictwa w Szkole Doktorskiej BioMedChem Uniwersytetu Łódzkiego i Instytutów Polskiej Akademii Nauk w Łodzi pod kierunkiem Pani Promotor dr hab. Agnieszki Robaszkiewicz, prof. UŁ na Wydziale Biologii i Ochrony Środowiska Uniwersytetu Łódzkiego.

Ocena formalna

Rozprawa składa się ze spisu treści, wykazu projektów, z których finansowane były badania w niej ujęte, wykazu dorobku doktorantki, wstępu (17 stron), celów pracy, omówienia wyników (61 stron), dyskusji (8 stron) i spisu literatury oraz streszczeń w języku angielskim i polskim, które zostały umieszczone nietypowo po wykazie literatury. Do rozprawy dołączono kopie trzech artykułów (opublikowanych w latach 2023-2025), w których przedstawiono wyniki a także kopie dwóch nierecenzowanych manuskryptów będących w trakcie przygotowania (jeden z nich został opublikowany w czasopiśmie *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics* już po złożeniu rozprawy), jak również oświadczenia współautorów publikacji i doktorantki. Rozprawa została przygotowana w języku polskim.

Rezultaty będące przedmiotem dysertacji ujęto w następujących pracach opublikowanych w czasopismach z listy Journal Citation Reports (JCR):

- 1) **Gronkowska, K.**; Robaszkiewicz, A. p300 dysregulation in cancers and its cross-talk with other epigenetic factors – a comprehensive review, *Mol Ther Oncol.* 2024 Sep 2;32(4):200871; doi: 10.1016/j.omton.2024.200871; IF:5,3, MNiSW:100
- 2) **Gronkowska, K.**; Michlewska, S.; Robaszkiewicz, A. Activity of lysosomal ABCC3, ABCC5 and ABCC10 is responsible for lysosomal sequestration of doxorubicin and paclitaxel-OregonGreen488 in paclitaxel-resistant cancer cell lines, *Cell Physiol Biochem* 2023; 57(5):360-378; doi: 10.33594/000000663.; IF:2,5, MNiSW:140
- 3) **Gronkowska, K.**; Kończ-Milewska, K.; Michlewska, S.; Płoszaj, T.; Borowiec, M.; Robaszkiewicz, A. HIF1A, BRG1, and p300 interaction confers paclitaxel-induced drug resistance by enabling the overexpression of ABCC genes, *Mol Ther Oncol.* doi:1016/j.omton.2025.201049; IF:5,3, MNiSW:100

oraz manuskryptach, które w momencie złożenia rozprawy nie zostały opublikowane

- 4) **Gronkowska, K.**; Michlewska, S.; Płoszaj, T.; Strachowska, M.; Stępień, A.; Borowiec, M.; Bednarek, A.; Robaszkiewicz, A. BRG1 targeting overcomes ABCC-8 based multidrug resistance

induced by paclitaxel, bioRxiv 2025.05.01.651609; doi: 10.1101/2025.05.01.651609 – w recenzji w The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics (Opublikowany w grudniu 2025).

5) **Gronkowska, K.**; Kołacz-Milewska, K.; Michlewska, S.; Robaszkiewicz, A. P53 supresses transcription of the p300-E2F1-dependent gene subset by maintaining KDM5B associated with gene promoters, bioRxiv 2025.08.25.672089; doi: 10.1101/2025.08.25.672089 – w recenzji w Nucleic Acids Research

W związku z ujęciem nieopublikowanych manuskryptów rozprawa jest do pewnego stopnia przygotowana w sposób niestandardowy i stanowi hybrydę pomiędzy monografią a rozprawą prezentującą cykl prac opublikowanych w czasopismach naukowych, jej długość (294 strony) odbiega znacząco od długości standardowych rozpraw doktorskich z tej dziedziny. **Rozprawa zawiera wszystkie elementy niezbędne do jej oceny.**

Dwie prace opublikowano w czasopiśmie z kwartyłu pierwszego według rankingu JCR (Mol Ther Oncol.), a dwie pozostałe w czasopiśmie Cell Physiol Biochem (kwartył 4 –cell biology) oraz The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics (kwartył 2). We wszystkich tych pracach doktorantka jest pierwszym autorem, co wskazuje na jej wiodący wkład w ich powstanie. Potwierdzone to jest również dołączonymi oświadczeniami współautorów. Prace są spójne tematycznie.

Spis literatury prezentuje prace, które zostały prawidłowo dobrane a większość ze 188 cytowanych publikacji pochodzi z ostatnich 10 lat.

Rozprawa doktorska Pani mgr Karoliny Gronkowskiej dotyczy bardzo istotnego zagadnienia jakim było zbadanie roli współzależności pomiędzy kompleksem SWI/SNF a acetylotransferazą histonów p300 w mechanizmach oporności nowotworów na leczenie, związanych zarówno z nadekspresją transporterów ABC i akumulacją leków w lizosomach, jak i z aktywacją odpowiedzi na uszkodzenia DNA poprzez szlak ATM/ATR–Chk1/Chk2–p53. Rozprawa opierała się na hipotezie, że kompleks SWI/SNF i białko p300 uczestniczą wspólnie w regulacji ekspresji genów odpowiedzialnych za te procesy a także mogą pośrednio wpływać na modulację potranslacyjnych modyfikacji E2F1 po indukcji uszkodzeń DNA cisplatyną. Oczekiwano, że uzyskane wyniki mają przyczynić się do

lepszego zrozumienia epigenetycznych podstaw lekooporności i stanowić punkt wyjścia do opracowania nowych strategii terapeutycznych.

Mgr. Karolina Gronkowska rozdzieliła główny cel badawczy swojej pracy czyli „poznanie roli kompleksu SWI/SNF- p300 w powstawaniu zjawiska oporności nowotworów” na dwa cele szczegółowe uściślające kierunek badań:

- 1) Rola kompleksu SWI/SNF-EP300 w nadekspresji frakcji transporterów ABC, która wzrasta w lizosomach, powodując zwiększoną akumulację leków w tych organellach (część 1 pracy)
- 2) Rola kompleksu SWI/SNF-p300 w zdolności komórek nowotworowych do regulowania odpowiedzi transkrypcyjnej w wyniku aktywacji ścieżki ATM/ATR-Chk1/Chk2-p53 (część 2 pracy)

Układ omawianych w pracy wyników był zgodny z zaprezentowanymi celami szczegółowymi. Wyniki zostały podzielone na dwie części określone w rozprawie odpowiednio jako sekcja 5 i 6.

Pierwszy cel badawczy został osiągnięty poprzez wykazanie, że nabycie oporności komórek nowotworowych na paklitaksel prowadzi do zależnej od transporterów z rodziny ABCC redystrybucji leku do lizosomów. Stwierdzono również, że hamowanie aktywności tych transporterów oraz wyciszenie genów ABCC3, ABCC5 i ABCC10 ogranicza lizosomalną sekwestrację chemioterapeutyków i przywraca wrażliwość komórek opornych na paklitaksel. Ponadto zaobserwowano, że białka BRG1 i p300 biorą udział w aktywacji transkrypcji wybranych transporterów ABC istotnych dla rozwoju oporności wielolekowej w liniach komórkowych niewrażliwych na paklitaksel. Celowane hamowanie kompleksu SWI/SNF z użyciem inhibitorów PFI-3 i ACBI1 oraz hamowanie aktywności p300 za pomocą C646 prowadziło do obniżenia ekspresji lizosomalnych transporterów ABCC i zwiększenia skuteczności chemioterapii. Dodatkowo wykazano, że funkcjonalna współpraca czynników HIF1A, p300 i BRG1 warunkuje regulację transkrypcji genów ABCC3, ABCC5 i ABCC10 w komórkach raka piersi i płuca opornych na paklitaksel.

Szczególnie interesującym i intrygującym wynikiem była obserwacja, że ekspozycja na paklitaksel powoduje dodatkową rearanżację w obrębie genu SMARCA4 prowadzącą do odzyskania ekspresji BRG1. **Bardzo proszę doktorantkę o rozwinięcie tej kwestii w kontekście potencjalnego nabycia**

nowych funkcji przez białko BRG1. Czy takie białko może np. działać niezależnie od kompleksu SWI/SNF, czy może zaburzać funkcję podklas kompleksów SWI/SNF?

Zaintrygowała mnie również obserwowana zależność pomiędzy HIF1A i BRG1 oraz HIF1A i p300. **Doktorantka wyciąga odważny wniosek na temat genomowego zakresu interakcji pomiędzy tymi białkami na podstawie analizy za pomocą mikroskopii konfokalnej. Bardzo proszę o komentarz czy zastosowanie techniki re-ChIP byłoby lepszym podejściem dostarczającym bardziej wiarygodnych wyników?** Proszę też o krótki komentarz na temat innych metod pozwalających na weryfikację w/w zależności.

Drugi szczegółowy cel badawczy został osiągnięty poprzez wykazanie, że cisplatyna prowadzi do dysocjacji białka p53 z kompleksów p53–p300–E2F1 obecnych w komórkach proliferujących, co sprzyja rekrutacji p300 do wybranych promotorów i aktywacji zależnej od p300 transkrypcji genów. **Obserwacja ta jest niezwykle interesująca, jednakże w mojej ocenie nie zostało to w wystarczającym stopniu udowodnione- wykazanie ko-lokalizacji i zmian w lokalizacji białek nie musi oznaczać, że istnieje pomiędzy nimi zależność funkcjonalna.** Również w tej części rozprawy w liście użytych metod nie dostrzegłem metody re-ChIP lub metody ekwiwalentnej a takie podejście znacząco zwiększyłoby wagę merytoryczną uzyskanych wyników. **Bardzo proszę doktorantkę o stosowny komentarz.** W ramach prowadzonych badań zaobserwowano, że procesowi temu towarzyszy zmniejszenie obecności demetylazy KDM5B, umożliwiające przebudowę chromatyny i zniesienie represji transkrypcyjnej genów kontrolowanych przez p53. Jednocześnie wykazano, że hamowanie aktywności p300 oraz ATPaz kompleksu SWI/SNF obniża ekspresję genów aktywowanych przez cisplatynę i zwiększa wrażliwość komórek nowotworowych na niskie dawki tego leku.

Podsumowując, w mojej ocenie Doktorantka zrealizowała postawione sobie cele badawcze a oceniana rozprawa doktorska stanowi wartościowe opracowanie poszerzające wiedzę na temat roli zależności pomiędzy kompleksem SWI/SNF a jego partnerem- białkiem p300 w powstawaniu lekooporności.

Uwagi oraz pozostałe pytania do rozprawy

1. Cztery z przedstawionych w rozprawie artykułów zostały już opublikowane co oznacza, że były one poddane krytycznej ocenie recenzentów, których uwagi zostały w sposób satysfakcjonujący

wyjaśnione. **Jednakże, prosiłbym doktorantkę o przedyskutowanie** jakie może być praktyczne zastosowanie wyników prezentowanych w tych pracach ze szczególnym uwzględnieniem korzyści dla pacjentów, biorąc pod uwagę: działanie inhibitorów na obie ATPazy- BRM i BRG1, występowanie tych ATPaz we wszystkich podklasach kompleksów SWI/SNF, występowanie tych kompleksów w komórkach zdrowych i potencjalną toksyczność inhibitorów. Bardzo proszę o uwzględnienie zjawiska **syntetycznej letalności**.

2. Praca przygotowana jest w sposób staranny jednakże doktorantka nie ustrzegła się szeregu literówek np. „imput” na rys. 31 D. Doktorantka nie ustrzegła się również niefortunnnych sformułowań, m.in. zamiennie używa określeń „rak” i „nowotwór”, „rak płuc” zamiast rak płuca, „metylazy histonowe” zamiast metylazy histonów, „inhibicja” zamiast „hamowanie” w kontekście działania enzymu. Doktorantka zamiennie używa EP300 i p300, jednakże sama podkreśliła w rozprawie, że terminy te odpowiadają odpowiednio genowi i białku.

3. Tytuł rozprawy jest dość niefortunnie sformułowany, gdyż p300 nie jest składnikiem kompleksu SWI/SNF i nie można mówić o kompleksie p300-SWI/SNF, tylko o interakcji p300-SWI/SNF. Sformułowanie to przewija się przez całą rozprawę i jest niewłaściwe.

4. Wstęp rozprawy jest zbyt skrótowy i momentami chaotyczny. Doktorantka nie ustrzegła się również błędów merytorycznych, m.in. na rys. nr 4 zamiast nazw białek użyto nazw genów a przecież w skład kompleksów nie wchodzi geny tylko białka. Dodatkowo, rysunek ten zawiera błędy dotyczące składu podjednostkowego podklas kompleksów SWI/SNF. **Bardzo proszę o prezentację podczas obrony właściwego składu podjednostkowego podklas kompleksu SWI/SNF.**

5. W sekcji 3.6 wstępu prezentowane są wyniki analiz przeprowadzonych przez doktorantkę. Wyniki te są prezentowane na rys. 5 umieszczonym we wstępie. **Czy nie byłoby lepszym podejściem ujęcie w rozprawie publikacji, w której doktorantka jest współautorką i umieszczenia tych danych w sekcji wyniki?**

6. Na stronie 88 doktorantka błędnie określa HDAC1, LSD1, KDM5B jako enzymy remodelujące chromatynę. Bardzo proszę o omówienie funkcji tych białek, szczególnie w kontekście zmiany struktury chromatyny poprzez przesuwanie i usuwanie nukleosomów.

7. **Bardzo proszę o informacje, jakie są losy publikacji złożonej w czasopiśmie Nucleic Acid Research.**

8. Bardzo pomocny byłby podsumowujący schemat końcowy w części 7. „Dyskusja” z zaznaczeniem najważniejszych osiągnięć doktorantki, ich znaczeniem i wskazaniem potencjalnych

dalszych kierunków badań/dróg wykorzystania. **Proszę o prezentację takiego schematu podczas obrony.**

Wniosek końcowy

Pomimo szeregu uwag i pytań rozprawę doktorską mgr Karoliny Gronkowskiej jednoznacznie oceniam wysoko. Wyniki uzyskane w ramach ocenianej rozprawy zostały opublikowane w czterech artykułach naukowych a także są ujęte w jednym manuskrypcie, który jest w recenzji w renomowanym czasopiśmie naukowym. Cele pracy zostały określone a odpowiednio dobrane metody pozwoliły na ich osiągnięcie. Dodatkowo, doktorantka wykazała się wiedzą teoretyczną w tematyce pracy o czym świadczą opublikowane prace, które przeszły pomyślnie przez proces recenzyjny także zawartość ocenianej rozprawy.

Dane ujęte w rozprawie rozszerzają wiedzę na temat roli kompleksów SWI/SNF i ich interakcji z białkiem p300 w powstawaniu lekooporności.

Podsumowując, jednoznacznie stwierdzam, że rozprawa doktorska mgr Karoliny Gronkowskiej spełnia wymogi określone w art. 187 Ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o Szkolnictwie Wyższym i Nauce (Dz. U. 2023 r., poz. 1668 z późniejszymi zmianami) i wnoszę do Komisji Uniwersytetu Łódzkiego do spraw stopni naukowych w dyscyplinie nauki biologiczne o dopuszczenie doktorantki do dalszych etapów postępowania o nadanie stopnia doktora w dziedzinie nauk ścisłych i przyrodniczych w dyscyplinie nauki biologiczne.