



Szczecin, 20.03.2026

Recenzja rozprawy doktorskiej mgr Anny Andrzejczak pt.: „Ocena wpływu zmienności genetycznej, poziomu rozpuszczalnej formy oraz regulacji epigenetycznej cząsteczki BTLA w kontekście rozwoju i przebiegu chorób nowotworowych”, którą wykonała pod kierunkiem Pani Prof. dr hab. Lidii Karabon w Laboratorium Genetyki i Epigenetyki Chorób Człowieka Instytutu Immunologii i Terapii Doświadczalnej im. Ludwika Hiszfelda Polskiej Akademii Nauk we Wrocławiu. Recenzja została wykonana na zlecenie Rady Naukowej Instytutu, zgodnie z pismem z dnia 16.01.2026 r. podpisanym przez Dyrektora Instytutu – Prof. dr hab. Andrzeja Gamiana.

I. Ogólna ocena układu rozprawy doktorskiej

Rozprawa doktorska mgr Anny Andrzejczak została przygotowana w formie hybrydowej i składa się (zgodnie z przesłanymi dokumentami) z 1 pracy przeglądowej oraz 5 oryginalnych, w tym – na moment składania doktoratu – 3 opublikowanych i 2 przyjętych do recenzji. Wszystkie prace opublikowano lub złożono do recenzji w prestiżowych i uznanych czasopismach z dyscypliny. Ponadto, do rozprawy dołączono autoreferat, w którym Doktorantka przedstawiła nie tylko założenia i wyniki rozprawy, ale także swoje osiągnięcia naukowe. Chciałabym zaznaczyć, że osiągnięcia te są imponujące i świadczą o dużej aktywności Doktorantki w życiu naukowe w Instytucie i poza nim oraz stanowią doskonały przykład bardzo prężnego rozwoju. Analizując dokumenty przedstawione przez Doktorantkę stwierdzam, że w czterech pracach jest ona pierwszą Autorką, w jednej pracy – drugą i w jednej – trzecią. W jednej z prac jest autorką korespondencyjną wraz z Promotorką. Udział Pani mgr Anny Andrzejczak został potwierdzony stosownymi oświadczeniami wszystkich

1

dr hab. Paulina Niedzwiedzka-Rystwej, prof. US
ul. Wacława Felczaka 3c, 71-412 Szczecin

paulina.niedzwiedzka-rystwej@usz.edu.pl

91 444 15 93

immuno.usz.edu.pl

współautorów. Poniżej przedstawiam wykaz prac z danymi bibliometrycznymi i rolą Doktorantki:

1. **Andrzejczak, A.**, Karabon, L. (2024). BTLA biology in cancer: from bench discoveries to clinical potentials. Biomarker Research, 12:8. <https://doi.org/10.1186/s40364-024-00556-2>. (IF 11,5; punkty MNiSW 100)

Zgodnie z załączonymi oświadczeniami, w tej pracy Pani mgr Anna Andrzejczak współtworzyła koncepcję pracy, wykonała przegląd literatury, stworzyła oryginalny tekst manuskryptu, przygotowała schematy i rysunki, edytowała tekst i przygotowała jego finalną postać.

2. **Andrzejczak, A.**, Partyka, A., Wiśniewski, A., Porębska, I., Pawełczyk, K., Ptaszkowski, K., Kuśnierczyk, P., Jasek, M., and Karabon, L. (2023). The Association of BTLA gene polymorphisms with non-small lung cancer risk in smokers and never-smokers. Frontiers in Immunology, 13, 1006639. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2022.1006639> (IF 5,7; punkty MNiSW 140)

W tej pracy Pani mgr Anna Andrzejczak współtworzyła koncepcję badań, przeprowadziła genotypowanie, opracowała wyniki, także pod względem statystycznym, stworzyła oryginalny tekst manuskryptu, przygotowała schematy, edytowała i ostatecznie przygotowywała tekst.

3. **Andrzejczak, A.**, Krajewski, W., Jaskuła, E., Chorbińska, J., Tomkiewicz, A., Małkiewicz, B., Szydełko, T., Karabon, L. (2025). Genetic Polymorphisms in

Immune Checkpoint Genes Influence Bladder Cancer Risk and Clinical. Polish Archives of Internal Medicine (w recenzji) (IF 4,7, punkty MNiSW 200)

Doktorantka współtworzyła koncepcję badań, opracowała metodologię, przeprowadziła genotypowanie, wykonała analizę statystyczną, stworzyła oryginalny tekst manuskryptu, przygotowała schematy, edytowała i ostatecznie przygotowywała tekst.

4. **Andrzejczak, A.**, Krajewski, W., Jaskuła, E., Chorbińska, J., Tomkiewicz, A., Sarat, K., Mroczek, R., Małkiewicz, B., Szydełko, T., Karabon, L., (2025). Soluble Immune Checkpoints and as Diagnostic Biomarkers in Bladder Cancer. Biomarker Research (w recenzji) (IF 11,5, punkty MNiSW 100)

Doktorantka współtworzyła koncepcję badań, opracowała metodologię, oznaczyła poziom białek w surowicy, wykonała analizę statystyczną, stworzyła oryginalny tekst manuskryptu, przygotowała schematy, edytowała i ostatecznie przygotowywała tekst.

5. Karabon, L., **Andrzejczak, A.**, Ciszak, L., Tomkiewicz, A., Szteblich, A., Bojarska-Junak, A., Roliński, J., Wołowicz, D., Wróbel, T., Kosmaczewska, A. (2021). BTLA expression in CLL: Epigenetic regulation and impact on CLL B cell proliferation and ability to IL-4 production. Cells, 10(11), 3009. <https://doi.org/10.3390/cells10113009> (IF 6,6, punkty MNiSW 140)

Doktorantka przeprowadziła analizę bioinformatyczną, oznaczyła poziom ekspresji BTLA mRNA i miR-155-5p, przeprowadziła eksperymenty wyciszania,

analizowała wyniki, brała udział w tworzeniu oryginalnego tekstu manuskryptu, przygotowała schematy, edytowała i ostatecznie przygotowywała tekst.

6. Kosmaczewska, A., Ciszak, L., **Andrzejczak, A.**, Tomkiewicz, A., Partyka, A., Rojek-Gajda, Z., Frydecka, I., Wołowicz, D., Wróbel, T., Bojarska-Junak, A., Roliński, J., Karabon, L. (2025). miR-155-5p Silencing Does Not Alter BTLA Molecule Expression in CLL T Cells: Implications for Targeted Immunotherapy. *Biomolecules*, 15(11), 1499. <https://doi.org/10.3390/biom15111499> (IF 4,8, punkty MNiSW 100)

Pani mgr Anna Andrzejczak wykonała badania ekspresji genów i miR, przeprowadziła analizę bioinformatyczną, testy lucyferazowe oraz badania związane z wyciszaniem miR, zarówno w linii komórkowej, jak i u pacjentów. Ponadto przeprowadziła analizy statystyczne w części genetycznej, przygotowała graficznie tę część do publikacji i brała udział w stworzeniu manuskryptu.

Na podstawie przedstawionych do oceny dokumentów stwierdzam, że Pani mgr Anna Andrzejczak odegrała kluczową rolę w powstaniu prac naukowych stanowiących podstawę rozprawy doktorskiej. Jednocześnie pragnę wyrazić uznanie dla wysokiego poziomu merytorycznego oraz zakresu przedstawionej pracy – rozprawa jest obszerna, a zrealizowane przez Doktorantkę zadania badawcze cechują się dużą złożonością, wielowymiarowością oraz szerokim ujęciem problematyki. Cykl zaprezentowanych publikacji tworzy spójną i logiczną całość, w pełni realizującą założone cele badawcze. Przedstawione wyniki świadczą o konsekwentnym i przemyślanym podejściu do realizacji projektu oraz o wysokim poziomie warsztatu naukowego.

Całokształt pracy, obejmujący zarówno rozprawę doktorską, jak i autoreferat, pozwala z pełnym przekonaniem stwierdzić, że Pani mgr Anna Andrzejczak w sposób dojrzały, spójny i ambitny zrealizowała postawione cele badawcze, wykazując się znaczną samodzielnością oraz dojrzałością naukową.

II. Ocena celu pracy

Głównym celem rozprawy doktorskiej była kompleksowa analiza związku polimorfizmów w genie kodującym cząsteczkę BLTA oraz ocena poziomów jej rozpuszczalnej formy, a także określenie funkcjonalnego znaczenia miR-155-5p w epigenetycznej regulacji ekspresji BTLA, w kontekście patogenezы chorób nowotworowych.

Realizacja celu nadrzędnego została podzielona na etapy:

1. Zbadanie związku pomiędzy polimorfizmami w genie *BTLA* a ryzykiem oraz progresją nie drobnokomórkowego raka płuca, z uwzględnieniem oceny korelacji wybranych SNP ze stadiem nowotworu oraz cechami histopatologicznymi guzów.
2. Przeanalizowanie znaczenia występowania wybranych SNP w genie *BTLA* jako czynników ryzyka i progresji raka pęcherza moczowego oraz ocenienie przydatności pomiaru poziomów rozpuszczalnej formy cząsteczki BTLA obecnej w surowicy jako markera diagnostycznego i prognostycznego w raku pęcherza moczowego.
3. Określenie funkcjonalnej roli miR-155-5p w epigenetycznej regulacji ekspresji *BTLA* w przewlekłej białaczce limfocytowej.

Stwierdzam, że wszystkie wyniki przedstawione w pracach stanowiących podstawę rozprawy doktorskiej Pan mgr Anny Andrzejczak w pełni realizowały założone cele pracy, spełniając jednocześnie najwyższe standardy naukowe.

Temat wybrany do badań jest niezwykle ciekawy i aktualny. Nie ma bowiem wątpliwości, że immunologiczne punkty kontrolne (immune checkpoints – IC) stanowią serce współczesnej immunoterapii. Rodzina tych czynników, obok jej klasycznych przedstawicieli, tj. PD-1 i CTLA-4, jest bardzo szeroka, a badanie roli innych czynników z tej grupy, kluczowe dla pełnego zrozumienia tej materii. Zmienność genetyczna w genach kodujących IC, szczególnie polimorfizmy pojedynczego nukleotydu (SNP), jest ważnym czynnikiem modelujących ekspresję lub funkcję tych białek, a co za tym idzie, wpływa ona na odpowiedź przeciwnowotworową. Ważnym aspektem kształtującym fundamentalny obraz roli IC w odpowiedzi immunologicznej jest fakt występowania ich form rozpuszczalnych, działających jako modulatory odpowiedzi immunologicznej. I wreszcie poruszony przez Doktorantkę aspekt regulacji epigenetycznej na poziomie mikroRNA stanowi nie tylko aktualny trend w nauce, ale także dopełnienie obrazu roli badanego IC, jakim jest BTLA.

Na szczególne wyróżnienie zasługuje fakt, że postawiony problem badawczy został opracowany i rozwiązany w sposób całościowy, z wykorzystaniem różnorodnych, komplementarnych metod oraz modeli badawczych. Takie podejście świadczy o bardzo dobrej znajomości analizowanej problematyki przez Doktorantkę, a także potwierdza jej wysokie kompetencje merytoryczne i metodologiczne, niezbędne do samodzielnego prowadzenia badań naukowych.

III. Ocena merytoryczna pracy z omówieniem poszczególnych prac składających się na rozprawę doktorską

Praca 1: *Andrzejczak, A., Karabon, L. (2024). BTLA biology in cancer: from bench discoveries to clinical potentials. Biomarker Research, 12:8. <https://doi.org/10.1186/s40364-024-00556-2>.*

Praca stanowi bardzo kompleksowy i profesjonalnie przygotowany wstęp teoretyczny opisujący biologię BTLA wraz z wszelkimi aspektami, które istotnie wpływają na rozumienie

badawczej części pracy, tj. mechanizmy sygnalizacji, rolę w regulacji układu odpornościowego oraz potencjał terapeutyczny w onkologii. Praca opublikowana jest w bardzo cenionym czasopiśmie z imponującymi danymi bibliometrycznymi.

Praca 2: *Andrzejczak, A., Partyka, A., Wiśniewski, A., Porębska, I., Pawełczyk, K., Ptaszkowski, K., Kuśnierczyk, P., Jasek, M., and Karabon, L. (2023). The Association of BTLA gene polymorphisms with non-small lung cancer risk in smokers and never-smokers. Frontiers in Immunology, 13, 1006639. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2022.1006639>*

W pracy skoncentrowano się na określeniu występowania siedmiu polimorfizmów genu *BTLA* w kontekście ich wpływu na ryzyko zachorowania, progresję choroby i przeżycie u imponującej grupy pacjentów z niedrobnokomórkowym rakiem płuca (NSCLC). W badanej populacji wykazano, że allel G rs1982809 wiąże się ze zwiększonym ryzykiem rozwoju NSCLC, podczas gdy allel A może pełnić funkcję ochronną, szczególnie u osób niepalących. Wpływ czynników genetycznych był modyfikowany przez palenie tytoniu oraz płeć – u kobiet stwierdzono dodatkowo zwiększone ryzyko związane z allelem T rs9288953, natomiast u mężczyzn nie obserwowano istotnych zależności. Nie wykazano jednoznacznych różnic w zależności od typu histologicznego ani stadium choroby, choć zauważono pewne tendencje. Analiza przeżycia wykazała natomiast, że nosiciele alleli C rs2705511 i G rs1982809 charakteryzowali się dłuższym całkowitym przeżyciem, co wskazuje na ich potencjalne znaczenie prognostyczne.

Praca 3: *Andrzejczak, A., Krajewski, W., Jaskuła, E., Chorbińska, J., Tomkiewicz, A., Małkiewicz, B., Szydelko, T., Karabon, L. (2025). Genetic Polymorphisms in Immune Checkpoint Genes Influence Bladder Cancer Risk and Clinical. Polish Archives of Internal Medicine (w recenzji)*

W pracy tej przeanalizowano cztery polimorfizmy genu *BTLA* w przebiegu klinicznym raka pęcherza moczowego (BC). Wykazano, że wybrane polimorfizmy mogą wpływać na podatność

na rozwój raka pęcherza (BC). Szczególnie rs2705511 i rs1982809 wiązały się ze zwiększonym ryzykiem zachorowania, co potwierdza nadreprezentacja heterozygot w grupie pacjentów, natomiast dla rs9288953 zaobserwowano jedynie tendencję do takiej zależności. Analiza z uwzględnieniem płci wskazała, że rs1982809 istotnie zwiększa ryzyko choroby u kobiet. Dodatkowo polimorfizm rs1844089 był związany z wyższym stopniem złośliwości guza, a obecność allelu A istotnie zwiększała ryzyko występowania bardziej agresywnych nowotworów.

Praca 4: *Andrzejczak, A., Krajewski, W., Jaskuła, E., Chorbińska, J., Tomkiewicz, A., Sarat, K., Mroczek, R., Małkiewicz, B., Szydełko, T., Karabon, L. (2025). Soluble Immune Checkpoints and as Diagnostic Biomarkers in Bladder Cancer. Biomarker Research (w recenzji)*

Praca ta jest niezwykle cenna w tym cyklu, jako że pokazuje powiązanie rozpuszczalnej formy BTLA z innymi ważnymi mediatorami immunoregulacji, co stanowi istotną obserwację nie tylko o charakterze fundamentalnym, ale także potencjalnie translacyjnym, jako że formy rozpuszczalne są stosunkowo łatwo mierzalne i dobrze sprawdzają się jako potencjalne biomarkery. Podwyższone poziomy sBTLA stwierdzono we wszystkich stadiach zaawansowania choroby oraz stopniach złośliwości nowotworu, przy czym nie odnotowano istotnych różnic między analizowanymi podgrupami. Analiza korelacji wykazała umiarkowaną dodatnią zależność pomiędzy sBTLA a sGal-9, a także słabszą, lecz istotną statystycznie korelację z sTIM-3.

Praca 5: *Karabon, L., Andrzejczak, A., Ciszak, L., Tomkiewicz, A., Szteblich, A., Bojarska-Junak, A., Roliński, J., Wołowicz, D., Wróbel, T., Kosmaczewska, A. (2021). BTLA expression in CLL: Epigenetic regulation and impact on CLL B cell proliferation and ability to IL-4 production. Cells, 10(11), 3009. <https://doi.org/10.3390/cells10113009>*

Praca dotyczy roli BTLA w przewlekłej białaczce limfocytowej (CLL) i jego wpływu na proliferację komórek B i produkcję IL-4. Wykazano, że wydzielanie IL-4 nie jest zależne od ekspresji BTLA, natomiast poziom miR-155-5p był średnio 3-krotnie wyższy, a poziom BTLA mRNA 6-krotnie wyższy u pacjentów z CLL w porównaniu z grupą kontrolną.

Praca 6: Kosmaczewska, A., Ciszak, L., **Andrzejczak, A.**, Tomkiewicz, A., Partyka, A., Rojek-Gajda, Z., Frydecka, I., Wołowicz, D., Wróbel, T., Bojarska-Junak, A., Roliński, J., Karabon, L. (2025). *miR-155-5p Silencing Does Not Alter BTLA Molecule Expression in CLL T Cells: Implications for Targeted Immunotherapy*. *Biomolecules*, 15(11), 1499. <https://doi.org/10.3390/biom15111499>

W pracy tej potwierdzono bezpośrednią interakcję miR-155-5p z mRNA BTLA poprzez region 3'UTR, co wykazano analizą *in silico* i testem lucyferazowym. Funkcjonalnie miR-155-5p obniżał aktywność lucyferazy dla konstruktu typu dzikiego, natomiast efekt ten nie występował dla wersji zmutowanej. Jednocześnie wykazano, że hamowanie miR-155-5p nie wpływa istotnie na poziom białka BTLA w limfocytach T pacjentów z CLL.

Na podstawie wszystkich prac wchodzących w skład rozprawy doktorskiej, Pani mgr Anna Andrzejczak wysnuła następujące wnioski:

1. Zróżnicowanie polimorficzne genu BTLA odgrywa istotną rolę w rozwoju i przebiegu niedrobnokomórkowego raka płuca, zwłaszcza w przypadku wariantu rs1982809, którego wpływ jest szczególnie widoczny u osób nigdy niepalących, co wskazuje na współdziałanie czynników genetycznych i środowiskowych. Oddziaływanie niektórych polimorfizmów, takich jak rs9288953, może być także zależne od płci, co prawdopodobnie wiąże się z różnicami hormonalnymi i stylem życia. Co więcej, wybrane warianty BTLA, choć zwiększają ryzyko zachorowania, mogą jednocześnie korelować z dłuższym przeżyciem, podkreślając ich potencjalne znaczenie prognostyczne.

2. Niektóre warianty polimorficzne genu BTLA, takie jak rs2705511 i rs1982809, są związane ze zwiększonym ryzykiem rozwoju raka pęcherza moczowego, natomiast rs1844089 może sprzyjać wyższemu stopniowi złośliwości guza. Szczególnie istotną zależność dla rs1982809 zaobserwowano u kobiet, co sugeruje udział czynników zależnych od płci w patogenezie choroby.
3. Podwyższone stężenie rozpuszczalnej formy BTLA (sBTLA) w surowicy pacjentów sugeruje jej potencjalną wartość jako markera diagnostycznego w nowotworach, w tym w raku pęcherza moczowego.
4. miR-155-5p reguluje ekspresję BTLA w komórkach B pacjentów z przewlekłą białaczką limfocytową poprzez bezpośrednie wiązanie z regionem 3'UTR genu, prowadząc do zahamowania translacji białka.
5. Wyciszenie miR-155-5p skutkuje częściowym przywróceniem poziomu BTLA w komórkach białaczkowych, bez wpływu na jego ekspresję w komórkach T, co potwierdza epigenetyczny mechanizm regulacji i wskazuje na możliwość terapeutycznego blokowania miR-155 w CLL.

Wnioski sformułowane przez Doktorantkę stanowią wyraźne potwierdzenie jej dojrzałości naukowej, rzetelnego i odpowiedzialnego podejścia do interpretacji uzyskanych wyników, a także wysokich kompetencji w zakresie ich krytycznej analizy. Przeprowadzone przez Panią mgr Annę Andrzejczak badania nie tylko w pełni realizują cele stawiane rozprawom doktorskim, ale wręcz je przekraczają, stanowiąc wartościowe i kompleksowe źródło wiedzy na temat roli cząsteczki BTLA w rozwoju oraz progresji chorób nowotworowych.

Całokształt pracy świadczy o bardzo dobrym przygotowaniu Doktorantki do prowadzenia samodzielnej działalności naukowej, obejmującym zarówno umiejętność planowania badań,

jak i ich konsekwentnej realizacji oraz właściwej interpretacji wyników w szerszym kontekście naukowym.

IV. Ocena końcowa pracy

Rozprawa doktorska Pani mgr Anny Andrzejczak pt. *„Ocena wpływu zmienności genetycznej, poziomu rozpuszczalnej formy oraz regulacji epigenetycznej cząsteczki BTLA w kontekście rozwoju i przebiegu chorób nowotworowych”* stanowi samodzielne, oryginalne oraz bardzo wartościowe opracowanie dotyczące istotnego problemu badawczego. Praca charakteryzuje się wysokim poziomem merytorycznym, a przyjęte cele badawcze są zarówno ambitne, jak i jasno oraz precyzyjnie określone, a następnie konsekwentnie zrealizowane. Sformułowane wnioski odznaczają się dojrzałością i oryginalnym podejściem, w pełni odpowiadają na postawione pytania badawcze, jednocześnie wnosząc istotny wkład w rozwój wiedzy w obrębie danej dyscypliny. Co więcej, uzyskane wyniki posiadają również wyraźny potencjał aplikacyjny, co podkreśla ich praktyczne znaczenie.

Stwierdzam, że rozprawa doktorska mgr Anny Andrzejczak pt.: *„Ocena wpływu zmienności genetycznej, poziomu rozpuszczalnej formy oraz regulacji epigenetycznej cząsteczki BTLA w kontekście rozwoju i przebiegu chorób nowotworowych”*, którą wykonała pod kierunkiem Pani Prof. dr hab. Lidii Karabon w Laboratorium Genetyki i Epigenetyki Chorób Człowieka Instytutu Immunologii i Terapii Doświadczalnej im. Ludwika Hiszfelda Polskiej Akademii Nauk we Wrocławiu **spełnia** wszystkie warunki określone w art. 187 ust. 1 i 2 ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz.U. z 2024 r., poz. 1571 z późn.zm.). Wnoszę zatem o dopuszczenie Pani mgr Anny Andrzejczak do dalszych etapów postępowania w sprawie nadania stopnia doktora w dyscyplinie nauki medyczne.

Jednocześnie, z uwagi na bardzo wysoką jakość przedstawionej mi do oceny rozprawy doktorskiej, a w szczególności:

- dobrze zdefiniowany i aktualny problem badawczy;

- właściwe i kompleksowe podejście metodologiczne do badań;
- mnogość modeli badawczych wykorzystanych w pracach;
- wyciągnięcie trafnych i odpowiadających celom wniosków, a także umiejętne dyskutowanie wyników;
- wyjątkowo schludne graficzne przygotowanie prac wchodzących w skład rozprawy, jak i godne podziwu, czytelne i bardzo informacyjne opracowanie samej rozprawy i autoreferatu;
- biegłość w przygotowywaniu manuskryptów naukowych, publikowanych w renomowanych czasopismach branżowych, zarówno oryginalnych wyników badań, jak i prac przeglądowych
- opublikowanie prac w renomowanych czasopismach naukowych;
- potencjalnie praktyczny prowadzonych badań,

wnioskuję o stosowne wyróżnienie.


dr hab. Paulina Niedzwiedzka-Rystwej, prof. US
Centrum Immunologii Doświadczalnej
oraz Immunobiologii Chorób
Zakaźnych i Nowotworowych
Uniwersytet Szczeciński

dr hab. Paulina Niedzwiedzka-Rystwej, prof. US
ul. Waława Felczaka 3c, 71-412 Szczecin

paulina.niedzwiedzka-rystwej@usz.edu.pl

91 444 15 93

immuno.usz.edu.pl