



Warszawa, 06.07.2026

Prof. dr hab. Joanna Kruszewska
Pracownia Biologii Grzybów
Instytut Biochemii i Biofizyki PAN

Recenzja

rozprawy doktorskiej mgr inż. Kavyi Kondaki pt. „Yeast DNA Topoisomerase II as a Model Molecular Target for Novel Antifungal Compounds”, przygotowanej pod kierunkiem dr hab. inż. Iwony Gabriel.

Rozprawa doktorska została wykonana na Politechnice Gdańskiej.

Podstawę formalną sporządzenia niniejszej recenzji stanowi uchwała Rady Dyscypliny Nauki Chemiczne Politechniki Gdańskiej z dnia 9 czerwca 2026 r., powołująca mnie na recenzenta wyżej wymienionej rozprawy doktorskiej mgr inż. Kavyi Kondaki.

Podstawę prawną recenzji stanowi art. 13 ust. 1 ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz.U. z 2003 r. Nr 65, poz. 595 z późn. zm.).

Wybór tematu i jego znaczenie

Candida albicans stanowi powszechny składnik mikrobioty człowieka, a jednocześnie jest najczęstszą przyczyną oportunistycznych zakażeń grzybiczych u pacjentów z obniżoną odpornością. Śmiertelność związana z tymi zakażeniami wynosi od 30 do 50%. Zdolność *C. albicans* do kolonizacji i zakażenia różnorodnych nisz organizmu gospodarza wynika z szerokiego repertuaru czynników wirulencji, wyjątkowej zdolności adaptacji do zmieniających się warunków środowiskowych, efektywnych systemów pozyskiwania składników odżywczych oraz sprawnych mechanizmów odpowiedzi na stres.

Leczenie zakażeń grzybiczych pozostaje dużym wyzwaniem ze względu na ograniczoną liczbę dostępnych klas leków przeciwgrzybiczych. Ich skuteczność kliniczna jest dodatkowo ograniczana przez narastającą lekooporność, toksyczność wobec gospodarza oraz istotne klinicznie interakcje z innymi lekami. Ponadto większość nowo wprowadzanych leków przeciwgrzybiczych opiera się na już znanych klasach związków i oddziałuje na dobrze poznane cele molekularne, przede wszystkim poprzez hamowanie biosyntezy ergosterolu lub bezpośrednią interakcję z ergosterolem błony komórkowej grzybów.



We wprowadzeniu do rozprawy Doktorantka przedstawia kompleksowy przegląd aktualnych ograniczeń terapii przeciwgrzybiczej, zwracając szczególną uwagę na narastający problem lekooporności gatunków z rodzaju *Candida* oraz pilną potrzebę opracowania nowych strategii terapeutycznych. Trafnie wskazuje, że poszukiwanie nowych leków przeciwgrzybiczych koncentrowało się dotychczas głównie na już poznanych celach molekularnych, co w naturalny sposób ogranicza możliwości odkrywania innowacyjnych terapii. W celu przezwyciężenia tych ograniczeń proponuje podejście interdyscyplinarne, integrujące osiągnięcia biologii molekularnej, genomiki, proteomiki, chemii medycznej i farmakologii.

Doktorantka szczegółowo omawia współczesne strategie poszukiwania nowych leków przeciwgrzybiczych, obejmujące przesiewowe badania naturalnych produktów pochodzenia roślinnego, identyfikację metodami genomiki i proteomiki genów niezbędnych do życia grzybów oraz szlaków metabolicznych nieobecnych u człowieka, optymalizację postaci leków w celu poprawy biodostępności i ograniczenia toksyczności, a także rozwój terapii skojarzonych, których celem jest uzyskanie efektu synergistycznego, zmniejszenie dawek stosowanych leków oraz przezwycięzenie zjawiska lekooporności. Autorka omawia również coraz szerzej rozwijaną koncepcję repozycjonowania leków, wskazując, że niektóre związki opracowane pierwotnie do leczenia innych schorzeń wykazują aktywność przeciwgrzybiczą i mogą poszerzyć dostępny arsenał terapeutyczny zarówno stosowane samodzielnie, jak i w skojarzeniu z klasycznymi lekami przeciwgrzybiczymi.

Doktorantka zwraca ponadto uwagę, że opracowanie nowych leków przeciwgrzybiczych jest szczególnie trudne, ponieważ grzyby i człowiek należą do organizmów eukariotycznych, a tym samym posiadają wiele wspólnych szlaków metabolicznych, co ogranicza możliwości selektywnego oddziaływania terapeutycznego. W tym kontekście wskazuje grzybową topoizomerazę II DNA jako szczególnie obiecujący cel molekularny. Chociaż człowiek posiada homolog tego enzymu, różnice strukturalne pomiędzy białkiem grzybowym i ludzkim stwarzają możliwość opracowania selektywnych inhibitorów o ograniczonej toksyczności wobec gospodarza.

W dalszej części wprowadzenia Doktorantka szczegółowo opisuje budowę i funkcję biologiczną topoizomerazy II DNA, omawiając domenę ATP-azową, domenę odpowiedzialną za wiązanie i cięcie DNA oraz C-kończową domenę regulatorową. Ze względu na kluczową rolę tego enzymu w replikacji DNA, transkrypcji, segregacji chromosomów oraz utrzymaniu integralności genomu, topoizomeraza II od wielu lat stanowi ważny cel terapii przeciwnowotworowej. Doktorantka przedstawia wyniki badań wykazujących, że ludzka i grzybowa topoizomeraza II, ekspresowane w komórkach



drożdży, różnią się wrażliwością na niektóre leki przeciwnowotworowe. Część tych związków wykazuje aktywność przeciwgrzybiczą poprzez jednoczesne oddziaływanie na grzybową topoizomerazę II oraz zaburzanie integralności błony komórkowej. Wprowadzenie kończy dobrze uporządkowane porównanie grzybowej i ludzkiej topoizomerazy II DNA, przedstawiające zarówno podobieństwa, jak i różnice strukturalne między tymi enzymami. Stanowi ono solidne uzasadnienie naukowe dla podjętych w rozprawie badań oraz realizowanych celów badawczych.

Ocena publikacji naukowych

Pierwszy artykuł przeglądowy pt. „**Targeting DNA Topoisomerase II in Antifungal Chemotherapy**” przedstawia topoizomerazę II DNA jako dobrze ugruntowany cel terapeutyczny w chemioterapii przeciwbakteryjnej i przeciwnowotworowej oraz omawia jej potencjał jako nowego celu w rozwoju leków przeciwgrzybiczych. Ponieważ stosunkowo niewiele wiadomo na temat wykorzystania tego enzymu w terapii przeciwgrzybiczej, praca ta stanowi kompleksowe i aktualne opracowanie tego zagadnienia.

Doktorantka najpierw przedstawia aktualnie dostępne terapie przeciwgrzybicze, podkreślając pilną potrzebę identyfikacji nowych celów molekularnych. Wskazuje topoizomerazę II DNA jako szczególnie atrakcyjnego kandydata. Inhibitory ludzkiej topoizomerazy II są szeroko stosowane w terapii przeciwnowotworowej, natomiast bakteryjne topoizomerazy stanowią uznane cele leków przeciwbakteryjnych. Związki te działają głównie poprzez stabilizację kompleksu pocięte DNA–topoizomeraza II, co uniemożliwia ponowne połączenie nici DNA i prowadzi do letalnych uszkodzeń materiału genetycznego. Natomiast inhibitory katalityczne zaburzają hydrolizę ATP i wiążą na stałe DNA w obrębie enzymu bez stabilizacji kompleksu cięcia.

W publikacji omówiono również strukturę i funkcję biologiczną grzybowej topoizomerazy II pochodzącej z *Saccharomyces cerevisiae*. Co istotne, doktorantka podkreśla różnice strukturalne i funkcjonalne pomiędzy enzymem grzybowym a ludzkim, co stanowi istotne uzasadnienie dla wykorzystania topoizomerazy II jako selektywnego celu terapii przeciwgrzybiczej.

Druga publikacja pt. „**Anticancer Drugs Targeting Topoisomerase II for Antifungal Treatment**” analizuje, czy różnice strukturalne pomiędzy grzybową a ludzką topoizomerazą II mogą zostać wykorzystane do identyfikacji związków selektywnie hamujących enzym grzybowy. Autorzy ocenili kilka klinicznie stosowanych leków przeciwnowotworowych działających jako „trucizny topoizomerazy II” oraz przeanalizowali ich aktywność wobec enzymu drożdżowego i właściwości przeciwgrzybicze.



Co istotne, mimo że większość badanych związków silnie hamowała topoisomerazę II drożdży *in vitro*, tylko część z nich wykazywała istotną aktywność przeciwgrzybiczą. Badania wykazały, że nawet niewielkie zmiany strukturalne, takie jak brak jednej grupy metoksyłowej, mogą znacząco wpływać na skuteczność przeciwgrzybiczą. Szczególnie istotna była obserwacja, że niektóre szczepy *Candida* odporne na flukonazol pozostawały wrażliwe na idarubicynę oraz inne inhibitory topoisomerazy II.

Analizy mikroskopowe komórek *S. cerevisiae* traktowanych idarubicyną wykazały poważne zmiany w DNA jądrowym i mitochondrialnym, w tym zjawiska fuzji DNA oraz wzrost poziomu reaktywnych form tlenu (ROS), co sugeruje udział apoptozy w mechanizmie działania przeciwgrzybiczego. Autorzy ocenili również udział pomp effluksowych w oporności komórek na idarubicynę. Łącznie wyniki te wskazują, że inhibitory topoisomerazy II stanowią obiecującą grupę kandydatów na leki przeciwgrzybicze.

Trzecia publikacja pt. „**Structural Insights into Fungal and Human Topoisomerase II with Implications for In Silico Antifungal Drug Design**” przedstawia szczegółowe porównanie strukturalne ludzkiej topoisomerazy II α oraz topoisomerazy II *S. cerevisiae*. Analiza opierała się na strukturze krystalicznej homodimeru enzymu drożdżowego w kompleksie z DNA oraz analogiem ATP, a także dostępnych strukturach enzymu ludzkiego.

Analiza porównawcza wykazała kilka istotnych różnic strukturalnych, które mogą zostać wykorzystane w racjonalnym projektowaniu selektywnych inhibitorów przeciwgrzybiczych. Najbardziej znaczące różnice zidentyfikowano w domenie TDL, szczególnie w obrębie pętli K, helisy α (lub regionu helikalnego) oraz pętli stabilizującej helisę. Wyniki te stanowią ważną podstawę strukturalną dla projektowania leków ukierunkowanych na selektywne hamowanie topoisomerazy II grzybów przy jednoczesnym ograniczeniu działania na enzym ludzki.

Czwarta publikacja pt. „**Bisacridine Derivatives as Effective Eukaryotic Topoisomerase II Inhibitors**” dotyczy syntezy oraz charakterystyki biologicznej nowych pochodnych bisakrydyn jako inhibitorów topoisomerazy II grzybowej i ludzkiej. Chociaż bisakrydyny są dobrze znane ze swojej aktywności przeciwnowotworowej, ich potencjał przeciwgrzybiczy pozostawał dotąd słabo poznany.

W oparciu o wcześniejsze wyniki autorzy zaprojektowali i zsyntetyzowali serię nowych pochodnych bisakrydyn, a następnie ocenili ich wpływ na aktywność topoisomerazy II *in vitro*. Badania wykazały, że nawet niewielkie modyfikacje strukturalne znacząco wpływają na aktywność biologiczną. Przykładowo, selektywne hamowanie topoisomerazy II drożdży obserwowane dla związku IKE16 zostało całkowicie utracone w



analogach IKE17 i IKE17a, które różnią się jedynie obecnością dodatkowych podstawników metylowych lub metoksyowych w pierścieniach akrydynowych. Związki różniły się również mechanizmem hamowania enzymu. Podczas gdy część pochodnych skutecznie hamowała rozplatanie DNA zależne od topoizomerazy II, związek IKE16 wykazywał niewielką aktywność w tym mechanizmie, co sugeruje odmienny sposób działania. Najsilniejszą aktywność przeciwgrzybiczą wykazywał związek zawierający dwie reszty akrydynowe połączone łącznikiem etyloaminowym, natomiast związki z łącznikiem piperazynowym, w tym IKE16, charakteryzowały się znacznie słabszą aktywnością. Co istotne, najbardziej aktywne związki zachowywały skuteczność wobec szczepów *Candida* opornych na flukonazol. Autorzy wykazali również, że niektóre bisakrydyny indukują powstawanie reaktywnych form tlenu (ROS), co sugeruje udział stresu oksydacyjnego w mechanizmie działania przeciwgrzybiczego. Wskazano, że skuteczność przeciwgrzybicza zależy nie tylko od selektywnej inhibicji topoizomerazy II, ale również od specyfiki szczepu oraz aktywności pomp efluksowych. Co zaskakujące, najbardziej selektywny inhibitor topoizomerazy II (IKE16) wykazywał jednocześnie znaczną cytotoksyczność wobec komórek ssaczych. Autorzy sugerują, że ściana komórkowa grzybów stanowi istotną barierę ograniczającą akumulację leku wewnątrz komórki, co wymaga stosowania wyższych stężeń i w konsekwencji zwiększa toksyczność wobec gospodarza. W związku z tym wskazują optymalizację transportu związków przez ścianę komórkową jako istotny kierunek dalszych badań.

Streszczenie

Seria publikacji wchodzących w skład rozprawy doktorskiej mgr Kavyi Kondaki przedstawia spójny i logicznie uporządkowany program badawczy ukierunkowany na opracowanie nowych leków przeciwgrzybiczych celujących w grzybową topoizomerazę II DNA. Praca w sposób przekonujący wykazuje, że skuteczne projektowanie leków przeciwgrzybiczych wymaga podejścia interdyscyplinarnego, obejmującego identyfikację i charakterystykę odpowiedniego celu molekularnego, racjonalne projektowanie inhibitorów, walidację strukturalną i biochemiczną oraz kompleksową ocenę biologiczną w komórkach grzybów.

Poszczególne publikacje stanowią kolejne etapy tej strategii badawczej. Pierwsza praca definiuje grzybową topoizomerazę II jako obiecujący cel terapeutyczny. Druga analizuje potencjał przeciwgrzybiczy klinicznie stosowanych inhibitorów topoizomerazy II oraz wyjaśnia mechanizmy ich działania. Trzecia dostarcza szczegółowego porównania strukturalnego enzymów grzybowych i ludzkich, stanowiąc podstawę dla racjonalnego projektowania selektywnych inhibitorów. Czwarta natomiast opisuje syntezę oraz ocenę



biologiczną nowych pochodnych bisakrydyn, zaprojektowanych z wykorzystaniem tych różnic strukturalnych.

Łącznie publikacje te tworzą spójny i naukowo dobrze uzasadniony zbiór badań, który w sposób konsekwentny prowadzi od identyfikacji nowego celu przeciwgrzybiczego do racjonalnego projektowania i charakterystyki biologicznej obiecujących związków wiodących.

Wnioski końcowe

Rozprawa doktorska pt. „**Yeast DNA Topoisomerase II as a Model Molecular Target for Novel Antifungal Compounds**” spełnia wymagania określone w art. 13 ust. 1 ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz.U. z 2003 r. Nr 65, poz. 595 z późn. zm.).

Biorąc pod uwagę jakość naukową rozprawy, oryginalność badań oraz znaczenie uzyskanych wyników, stwierdzam, że rozprawa spełnia wszystkie ustawowe wymagania do nadania stopnia doktora.

W związku z powyższym rekomenduję Radzie Dyscypliny Nauki Chemiczne Politechniki Gdańskiej dopuszczenie mgr Kavyi Kondaki do dalszych etapów postępowania doktorskiego prowadzącego do uzyskania stopnia doktora nauk przyrodniczych w dyscyplinie nauki chemiczne.

Z poważaniem

Prof. dr hab. Joanna Kruszewska



Pytania do Kandydatki

Jednym z głównych argumentów za wyborem grzybowej topoizomerazy II jako celu terapeutycznego są różnice strukturalne między enzymem grzybowym i ludzkim. Które z tych różnic uważa Pani za najbardziej obiecujące z punktu widzenia projektowania selektywnych inhibitorów i dlaczego?

W swoich badaniach wykazała Pani, że silne hamowanie aktywności Topo II *in vitro* nie zawsze przekłada się na wysoką aktywność przeciwgrzybiczą. Jakie czynniki, poza powinowactwem inhibitora do enzymu, mogą odpowiadać za tę rozbieżność?

W pracy wykazano aktywność niektórych inhibitorów wobec szczepów opornych na flukonazol. Czy uważa Pani, że Topo II może stanowić cel terapeutyczny niezależny od mechanizmów oporności na azole, czy też istnieją mechanizmy oporności, które mogą ograniczać skuteczność również tej grupy związków?

W badaniach obserwowano wzrost poziomu reaktywnych form tlenu (ROS) po zastosowaniu niektórych inhibitorów. Czy, Pani zdaniem, generowanie ROS jest głównym mechanizmem działania przeciwgrzybiczego tych związków, czy raczej wtórną konsekwencją uszkodzenia DNA i zaburzeń funkcji mitochondriów?

W pracy zwrócono uwagę na rolę ściany komórkowej jako bariery ograniczającej dostęp inhibitorów do celu molekularnego. Jakie strategie mogłyby zostać zastosowane w celu zwiększenia penetracji związków do komórek grzyba bez zwiększania ich toksyczności wobec komórek gospodarza?

Który z badanych związków uważa Pani za najbardziej perspektywicznego kandydata do dalszych badań przedklinicznych i jakie eksperymenty byłyby kolejnym etapem jego rozwoju?

Czy uważa Pani, że celowanie w topoizomerazę II powinno być rozwijane jako monoterapia, czy raczej jako element terapii skojarzonej z obecnie stosowanymi lekami przeciwgrzybiczymi? Jakie korzyści i zagrożenia wiążą się z każdym z tych podejść?

W pracy wykorzystano *Saccharomyces cerevisiae* jako model badawczy. Jakie ograniczenia tego modelu należy uwzględnić przy przenoszeniu uzyskanych wyników na klinicznie istotne gatunki rodzaju *Candida*, zwłaszcza *Candida albicans*?