

Prof. dr hab. Ewa Ziemann

Poznań 15.04.2024r

Katedra Kinezyjologii Sportu

Akademia Wychowania Fizycznego

im. Eugeniusza Piaseckiego

ul. Królowej Jadwigi 27/39

61-871 Poznań

---

## RECENZJA

wniosku o nadanie

doktor nauk o zdrowiu Anecie Stachowicz

stopnia naukowego doktora habilitowanego w dziedzinie nauk medycznych

i nauk o zdrowiu, w dyscyplinie nauk medyczne

Recenzję wniosku przygotowałam w oparciu o obowiązujące przepisy prawne:

- ✓ art. 221 ust. 5 ustawy Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 2023 r. poz. 742),
- ✓ wniosek z dnia 23.09.2023 roku o przeprowadzenie postępowania habilitacyjnego złożony przez Panią dr Anetę Stachowicz do Rady Doskonałości Naukowej (RDN)
- ✓ ustalenia Rady Dyscypliny Nauk Medycznych Uniwersytetu Jagiellońskiego z dnia 16 stycznia 2024 o powołaniu składu komisji habilitacyjnej
- ✓ otrzymaną dokumentację z UJ dnia 15 lutego 2024

### 1. Informacje dotyczące wykształcenia i przebiegu pracy zawodowej Kandydatki

Pani Doktor Aneta Stachowicz jest absolwentką studiów magisterskich na kierunku Biofizyka, na Wydziale Biochemii, Biofizyki i Biotechnologii, Uniwersytetu Jagiellońskiego, które ukończyła w 2010 uzyskując stopień magistra biofizyki. Następnie kontynuowała naukę jako studentka Interdyscyplinarnych studiów doktoranckich „Nauki molekularne dla medycyny” (MOL-MED), które były prowadzone przez Instytut Katalizy i Fizykochemii Powierzchni PAN, na Wydziale Lekarskim Collegium Medium i Wydziale Chemii UJ i Instytutu Farmakologii PAN. Studia te ukończyła broniąc dysertację doktorską pt: „**Badania nad rolą mitochondrialnej dehydrogenazy aldehydowej (ALDH2) w patogenezie miażdżycy, depresji i neurodegeneracji**”, której promotorami byli prof. dr hab. Rafał Olszanecki i prof. dr hab. Agnieszka Basta-Kaim. W 2015 Rada Wydziału Lekarskiego UJ CMU nadała Jej stopień doktora nauk medycznych w dyscyplinie biologia medyczna.

## Ocena osiągnięcia naukowego

Jako osiągnięcie naukowe Pani Doktor Stachowicz wskazała monotematyczny cykl trzech publikacji napisany pod wspólnym tytułem: „**Zastosowanie metod proteomicznych do poszukiwania molekularnych mechanizmów wpływających na fenotypowe różnicowanie komórek w chorobach układu krążenia o podłożu zapalnym**”. Łączna wartość punktowa opublikowanych prac wynosi 18.08 punktów impact factor, co odpowiada 340 punktom Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego. W skład osiągnięcia wchodzi następujące publikacje:

**Praca 1** Stachowicz Aneta, Wiśniewska Anna, Kuś Katarzyna, Białas Magdalena, Łomnicka Magdalena, Totoń-Żurańska Justyna, Kiepusza Anna, Stachyra Kamila, Suski Maciej, Bujak-Giżycka Beata, Jawień Jacek, Olszanecki Rafał. *Diminazene Aceturate Stabilizes Atherosclerotic Plaque and Attenuates Hepatic Steatosis in apoE-Knockout Mice by Influencing Macrophages Polarization and Taurine Biosynthesis. International Journal of Molecular Sciences* 2021: Vol. 22, nr 11, id. art. 5861. **IF: 6.208, MEiN: 140.000**, Kwartyl: Q1 (76,94), (11 współautorów),

**Praca 2** Stachowicz Aneta, Pandey Rakhi, Sundararaman Niveda, Venkatraman Vidya, Van Eyk Jennifer E., Fert-Bober Justyna. *Protein arginine deiminase 2 (PAD2) modulates the polarization of THP-1 macrophages to the anti-inflammatory M2 phenotype. Journal of Inflammation* 2022: Vol. 19, id. art. 20. **IF: 5.100, MEiN: 100.000**, Kwartyl: **Q2 (59,9)**, (6 współautorów)

**Praca 3** Stachowicz Aneta, Sadiq Alia, Walker Brian, Sundararaman Niveda, Fert-Bober Justyna. *Treatment of human cardiac fibroblasts with the protein arginine deiminase inhibitor BB-CI-amidine activates the Nrf2/HO-1 signaling pathway. Biomedicine & Pharmacotherapy* 2023: Volume 167, 115443. **IF: 7.500, MEiN: 100.000**, Kwartyl: **Q1 (91,9)**, (4 współautorów).

**Praca 1** została napisana w oparciu o wyniki badań na mysim modelu zwierzęcym z rozwojem miażdżycy C57BL/6J (22 myszy), z wyłączonym genem dla apolipoproteiny E (apoE<sup>-/-</sup>) oraz obecnością cech charakterystycznych dla umiarkowanego niealkoholowego stłuszczenia wątroby. Badania uzyskały zgodę komisji Etyki UJ (67/2014) i zostały przeprowadzone w ramach grantu Sonata finansowanego przez NCN 2017/26/D/NZ4/00480. Pani dr Stachowicz jest w pracy pierwszym autorem i pełni również rolę autora korespondującego. W powstawaniu publikacji uczestniczył zespół 11 pracowników UJ głównie Katedry Farmakologii i Patomorfologii, Ośrodka Genomiki Medycznej - OMICRON. Dołączone do dokumentacji oświadczenia współautorów są zgodne z oryginalnymi oświadczeniami w publikacji, może z jednym wyjątkiem. O ile nie budzi wątpliwości udział tak wielu osób, które realnie uczestniczyły w eksperymencie ze względu na zastosowanie mnogości

zaawansowanych metod, to rola jako współautora w publikacji magistra, która została w załączonym do dokumentacji oświadczeniu określona jako tylko „interpretacja wyników” (mgr Kieपुरa), jest mało przekonująca. Zasady etyczne jasno formułują jakie warunki musi spełniać osoba, która jest współautorem w publikacji. Udział mgr Kieपुरy w pracy oryginalnej został skalsyfikowany jako „investigation” czyli do końca nie określony. „Interpretacja wyników” nie jest działaniem naukowym, spełniającym współautora w publikacji.

**Praca 2** powstała w współpracy z Advanced Clinical Biosystems Research Institute, Smidt Heart Institute, Cedars-Sinai Medical Center, CA, w Los Angeles, w USA. Pani dr Stachowicz jest pierwszym autorem, a autorem korespondującym jest Pani Justyna Fert-Bober. Oświadczenia 6 współautorów w załączonej dokumentacji postępowania habilitacyjnego nie budzą wątpliwości i są zgodne z informacjami zawartymi w oryginalnej publikacji. W badaniach na makrofagach pozyskanych z linii monocytów THP-1 Kandydatka wykorzystwała zaawansowane metody laboratoryjne w tym chromatografię cieczową z tandemową spektrometrią mas (LC-MS/MS), ilościową reakcją łańcuchową polimerazy z odwrotną transkrypcją (Real-Time PCR), immunoenzymatyczną metodę Elissa, a do oceny funkcji mitochondriów w makrofagach THP-1 analizator przepływu metabolicznego Seahorse XF96. Uzyskane wyniki przyporządkowała w grupy i ścieżki sygnaliacyjne przy użyciu oprogramowania PINE (Protein Interaction Network Extractor) z wykorzystaniem STRING i GeneMANIA, a do mapowania miejsc cytrulinacji wykorzystwała stosowne biblioteki hipercytrulinowane. Badania zostały przeprowadzone również w ramach grantu NCN Sonata 2017/26/D/NZ4/00480.

**Praca 3** została przygotowana na podstawie wyników badań opartych o linię komórkową - tym razem ludzkich fibroblastów serca (CF). Podobnie jak w **pracy nr 2** badania przeprowadzono we współpracy z Advanced Clinical Biosystems Research Institute, Smidt Heart Institute, Cedars-Sinai Medical Center CA i Precision Biomarker Laboratories, Cedars-Sinai Medical Center, CA, w Los Angeles, w USA. Rola Pani dr Stachowicz w publikacji jest również wiodąca (jest pierwszym autorem), autorem korespondującym jest Pani Justyna Fert-Bober. Badanie zostało wsparte przez Narodową Agencję Wymiany Akademickiej (NAWA), a badania przeprowadzone podczas stażu naukowego dr Stachowicz w tej jednostce naukowej.

Przedstawiony do recenzji cykl publikacji zarówno naukometrycznie, jak i pod względem oryginalności tematycznej spełnia rekomendacje UJ załączone w dokumentacji habilitacyjnej dotyczące określenia trybu postępowania w sprawie nadania stopnia doktora habilitowanego. Wszystkie prace stanowią logiczny ciąg badań dotyczący mechanizmów regulujących stan zapalny towarzyszący wielu chorobom cywilizacyjnym. Stan zapalny może być związany ze procesem starzenia się (istotny problem ze względu na zmiany demograficzne), z szeregiem chorób

cywilizacyjnych, może być efektem zastosowanych metod leczenia (onkologia), indukowany również przez różne czynniki środowiskowe. O ile stan zapalny w procesie treningu rehabilitacyjnego czy sportowego jest tymczasowy i prowadzi do poprawy możliwości wysiłkowych człowieka, to w procesie leczenia (promieniowana RTG, np. naświetlanie śródpiersia) może oprócz niszczenia komórek patologicznych doprowadzić do szeregu niekorzystnych zmian tkanek zdrowych np. rozwoju blaszek miażdżycowych naczyń wieńcowych czy samego włóknienia mięśnia sercowego. Na ten fakt zwraca uwagę dr Stachowicz w prowadzonych działaniach naukowych i jest to ważny aspekt uzasadniający podejmowaną problematykę. Kandydatka w swoich badaniach wykorzystwała metody proteomiczne oparte o data-dependent acquisition (DDA), obejmujące m.in. oznaczenia ilościowe bez znakowania próbki - typu label-free quantification i ze znakowaniem próbki Isobaric Tags for Relative and Absolute Quantitation (iTRAQ) oraz techniki oparte o tzw. data-independent acquisition (DIA). Choć metody proteomiczne są stosowane w medycynie od lat, to rozwój technologii sprawia, iż są one coraz bardziej precyzyjne i umożliwiają oznaczanie proteomu pojedynczych komórek, co umożliwia obecnie sprawdzenie, co dzieje się w wybranych pojedynczych komórkach. Zainteresowania dr Stachowicz wprawdzie nie dotyczą zagadnień single cell, ale zostały dobrze zaplanowane i dotyczą wpływu między innymi stosowania farmakologicznej interwencji na polaryzację makrofagów do fenotypu prozapalnego M1 i przeciwzapalnego M2 w miażdżycy ze szczególnym uwzględnieniem roli enzymów deiminaz białkowo-argininowych oraz cytrulinacji w różnicowaniu fibroblastów do miofibroblastów w zwłóknieniu serca. Wyniki kolejnych prac wymagały doskonalenia zastosowanych technik proteomicznych, a Kandydatka w jasny i klarowny sposób opisała szczegółowo swoje badania w autoreferacie i sformułowała 9 wniosków końcowych. Obserwacje Habilitantki są istotne i tak jak wspomniałam powyżej ze względu na fakt, iż zarówno rozwój blaszek miażdżycowych w naczyniach krwionośnych np. serca, jak i stłuszczenie wątroby, mogą być konsekwencją nie tylko trybu życia, chorób przewlekłych, ale również efektem prowadzonej terapii np. onkologicznej, dokonania Habilitantki mogą przyczyniać się do poszukiwania nowych strategii terapeutycznych.

### **Inne osiągnięcia naukowe i organizacyjne Pani Doktor Anety Stachowicz**

Z załączonej dokumentacji Kandydatki i analizy bibliometrycznej dorobku wynika, iż łączna wartość dorobku naukowego to IF= 113,14. Według bazy Web of Science na dzień 19.09 2023 rok osiągnięcia naukowe spotykały się z zainteresowaniem środowiska międzynarodowego i były cytowane 403 razy (370 bez auto-cytowań). Odpowiada to wartości indeksu Hirscha 14. W załączonej liście publikacji opublikowanych po uzyskaniu stopnia doktora nauk medycznych, poza osiągnięciem naukowym, Pani Doktor była współautorką 18 prac oryginalnych i jednego rozdziału w monografii zagranicznej. W

wymienionych 18 pracach oryginalnych 6 razy była pierwszym autorem i 7 drugim, a w pozostałych jednym z wielu współautorów. Wśród tematyki pozostałych opublikowanych prac Kandydatki wiele z nich dotyczy dysfunkcji mitochondriów, których to rola w regulacji stanu zapalnego może być zarówno przyczyną jak i skutkiem. Uważam, że określenie w jaki sposób dochodzi do dysfunkcji mitochondriów ma znaczenie w patogenezie wielu chorób cywilizacyjnych. Pani dr Stachowicz podjęła próbę określenia roli mitochondrialnego siarkowodoru w przeprogramowaniu makrofagów z fenotypu prozapalnego M1 na przeciwzapalny M2 w miażdżycy i niealkoholowym stłuszczeniu wątroby. Kandydatka zajmowała się również wpływem stresu podczas ciąży na funkcje behawioralne i mitoproteom mózgu dorosłego potomstwa szczurów. W swoich badaniach zaobserwowała szereg niekorzystnych zmian mitochondrialnego białka rybosomalnego L12, mitochondrialnej dehydrogenazy NADH flawoproteiny 2 (NDUFV2) w korze czołowej, a w hipokampie podjednostki beta mitochondrialnej dehydrogenazy pirogronianowej E1, i zależnej od napięcia białka kanału anionoselektywnego 2 i białka jądrowego RAN wiążącego GTP. Badania Habilitantki wykazały również, iż dysfunkcja mitochondriów może być związana również z aktywacją komórkowego kompleksu prozapalnego - inflamasomu NLRP3, który pełni ważną rolę w układzie immunologicznym.

Pani Doktor Stachowicz była **kierownikiem** lub **wykonawcą** grantów finansowanych przez instytucje zewnętrzne:

- a). Mitochondrialna dehydrogenaza aldehydowa (ALDH2) jako punkt uchwytu dla nowych leków przeciwmiażdżycowych” (PRELUDIUM NCN N/NZ4/01145), grant NCN realizowanego w latach 2011 – 2014 (kierownik grantu),
- b). Wpływ siarkowodoru (H<sub>2</sub>S) wytwarzanego w mitochondriach na mechanizmy związane z przeprogramowaniem makrofagów – rola w miażdżycy i niealkoholowym stłuszczeniu wątroby (SONATA NCN 2017/26/D/NZ4/00480), grant NCN, realizowanego w latach 2018- 2023 (kierownik grantu),
- c). „Powstawanie, przemiany i rola angiotensyny-(1-12) w układzie krążenia - badania w modelu nadciśnienia” (N N401 293939), finansowanego przez MNiSzW, realizowanego w latach 2010-2012, (wykonawca grantu)

Wszystkie granty zostały „rozliczone” szeregiem publikacji naukowych, w których Kandydatka odgrywa wiodącą rolę. Ich szczegółowy wykaz znajduje się w załączonej dokumentacji habilitacyjnej, jak również na stronie Narodowego Centrum Nauki.

**Pani dr Stachowicz odbyła następujące staże naukowe:**

- ✓ miesięczny staż szkoleniowy w CSIC/UAB Proteomics Facility (Barcelona Biomedical Research Institute (IIBB-CSIC) / Autonomous University of Barcelona (UAB), Barcelona, Hiszpania) w

laboratorium proteomicznym, opanowanie nowych metod proteomicznych stosowanych w badaniach biomedycznych, 2015 rok;

- ✓ trzy miesięczny w Instytucie Biochemii Maxa Plancka w Martinsried (Niemcy), doskonalący przygotowanie próbek i analizę danych proteomicznych przy użyciu metod (label-free MS). Realizacja projektu badawczego we współpracy z Profesor Anettą Undas z Instytutu Kardiologii UJ CM i profesorem Jackiem Wiśniewskim z grupy proteomicznej Profesora Matthiasa Manna **3 oryginalne publikacje**, 03-05 2017;
- ✓ roczny staż podoktorski w Heart Institute, Cedars-Sinai Medical Center (Los Angeles, USA) w ramach programu Bekkera finansowanego przez Narodową Agencję Wymiany Akademickiej (NAWA). Badania pod kierunkiem Profesor Justyny Fert-Bober w laboratorium proteomicznym Profesor Jennifer Van Eyk, **opublikowanie 2 oryginalne prace**, 2019 – 2020.

**Warsztat badawczy doskonalila również uczestnicząc w szkoleniach:**

- ✓ Targeted Proteomics Course 2016 (8-12.02.2016, ETH Zurich)
- ✓ Network Biology Workshop: Cytoscape (11-15.01.2016, Collegium Medicum UJ, Kraków).

Kandydatka wyniki swoich badań prezentowała na krajowych i międzynarodowych konferencjach naukowych. Przed nadaniem stopnia doktora prezentowała je w 5 ustnych i 8 plakatowych wystąpieniach, a po nadaniu stopnia doktora 2 ustnych i 7 plakatowych. Ze względu na Jej aktywność publikacyjną była wielokrotnie recenzentem w czasopismach z listy JCR (Proteomics, PLOS ONE, Clinical Proteomics, Free Radical Research i wielu innych).

W ramach działalności dydaktycznej pani dr Stachowicz prowadziła zajęcia z przedmiotu Farmakologia dla studentów Wydziału Lekarskiego UJ w latach 2012-2015. Sprawowała opiekę nad praktykami wakacyjnymi, organizowała Festiwal nauki w UJ. Podejmowała również działania popularyzujące naukę, co jest w moim przekonaniu szczególnie istotne ze względu na szereg nieprawdziwych, powtarzanych faktów w mediach społecznościowych, które dyskredytują dokonania naukowe. Każda więc aktywność popularyzacyjna, a szczególnie taka, która w sposób przystępny wyjaśnia skomplikowane metody badawcze powinna być nieodłącznym elementem pracy naukowca. Działalność naukowa pani Doktor została doceniona nie tylko przez podmiot Ją zatrudniający, ale również przez regionalne i krajowe gremia (stypendium Doctus-małopolski fundusz stypendialny, stypendium miasta Krakowa), Fundację na Rzecz Nauki Polskiej (stypendium START), stypendium NAWA i stypendium Ministra Nauki i Szkolnictwa Wyższego.

### **Końcowa konkluzja**

Biorąc pod uwagę całokształt dorobku Pani Doktor Anety Stachowicz stwierdzam z pełnym przekonaniem, iż Jej badania są istotne dla rozwoju dyscypliny nauk medycznych. Zwracam uwagę na fakt bardzo dobrze, starannie przygotowanej dokumentacji i opisu wyników w sposób ciekawy i pasjonujący. Świadczy to o dużej dojrzałości naukowej Habilitantki, a Jej ścieżka naukowa może być przykładem dla innych młodych naukowców i wzorem konsekwencji badawczej, kolejnych kroków zdobywania wiedzy, doskonalenia technik i metod laboratoryjnych w kraju i za granicą. Podejmowana współpraca międzynarodowa zawsze została „uwiarygodniona” wspólnymi publikacjami. Dlatego, po zapoznaniu się z całokształtem dorobku naukowego, dydaktycznego i organizacyjnego Pani Doktor Anety Stachowicz stwierdzam, że spełnia Ona kryteria wymagane stosowną ustawą przy ubieganiu się o stopień doktora habilitowanego nauk medycznych. **W związku z powyższym rekomenduję Radzie Dyscypliny Nauki Medycznej UJ dopuszczenie Pani Doktor Anety Stachowicz do dalszych etapów postępowania habilitacyjnego.**

Prof. dr hab. Ewa Ziemann