



UNIwersYTET MEDYCZNY

IM. PIASTÓW ŚLĄSKICH WE WROCLAWIU

Katedra Biochemii i Immunochemii

Zakład Chemii i Immunochemii

Ul. Marii Skłodowskiej-Curie 50, 50-369 Wrocław

Dr hab. Mirosława Ferens-Sieczkowska,
prof. Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu

Wrocław, 05.04.2024

OCENA WNIOSKU O NADANIE STOPNIA NAUKOWEGO DOKTORA HABILITOWANEGO NAUK MEDYCZNYCH I NAUK O ZDROWIU DR ANECIE STACHOWICZ

Podstawą opracowania recenzji jest decyzja Rady Dyscypliny Nauki Medyczne Uniwersytetu Jagiellońskiego z dnia 16 stycznia 2024 roku, powołująca mnie na recenzenta w postępowaniu w sprawie nadania stopnia naukowego doktora habilitowanego nauk medycznych i nauk o zdrowiu, w dyscyplinie nauki medyczne, dr Anecie Stachowicz – pismo Przewodniczącego Rady Dyscypliny Nauki Medyczne Uniwersytetu Jagiellońskiego, profesora dra hab. Rafała Olszaneckiego L.dz. 1207.5110.2023.

Ocenę przygotowano w oparciu o zapisy art.219 ust1 pkt 2 i 3 ustawy z dnia 20 lipca 2018 roku – Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 2023r poz.742 ze zm.) oraz przedłożonych dokumentów, a to:

- Wniosek dr Anety Stachowicz o przeprowadzenie postępowania w sprawie nadania stopnia doktora habilitowanego nauk medycznych i nauk o zdrowiu, w dyscyplinie nauki medyczne
- Odpis dyplomu uzyskania stopnia naukowego doktora nauk medycznych w zakresie biologii medycznej w dniu 15 października 2015 roku
- Autoreferat zawierający opis osiągnięcia naukowego będącego podstawą do ubiegania się o awans naukowy
- Wykaz osiągnięć naukowych
- Analiza bibliometryczna przygotowana przez BiBliotekę Medyczną Collegium Medicum Uniwersytetu Jagiellońskiego
- Kopie artykułów naukowych wchodzących w skład osiągnięcia naukowego będącego podstawą do ubiegania się o stopień naukowy wraz z oświadczeniami współautorów

INFORMACJE OGÓLNE

Pani dr Aneta Stachowicz jest absolwentką Wydziału Biochemii, Biofizyki i Biotechnologii Uniwersytetu Jagiellońskiego, gdzie w 2010 roku uzyskała tytuł magistra biofizyki. Stopień naukowy doktora nauk

medycznych w dyscyplinie biologia medyczna uzyskała w roku 2015, po ukończeniu interdyscyplinarnych studiów doktoranckich Nauki Molekularne dla Medycyny (MOL-MED.), prowadzonych przez Instytut Katalizy i Fizykochemii Powierzchni PAN, Wydział Lekarski Collegium Medicum i Wydział Chemii UJ, oraz Instytut Farmakologii PAN. Temat rozprawy doktorskiej to „Badania nad rolą mitochondrialnej dehydrogenazy aldehydowej (ALDH2) w patogenezie miażdżycy, depresji i neurodegeneracji”. Swoją karierę zawodową związała z Katedrą Farmakologii Wydziału Lekarskiego Collegium Medicum UJ, gdzie jest zatrudniona od 2015 roku, początkowo na stanowisku naukowo-technicznym, a obecnie (od 2020 r.) jako adiunkt badawczy.

W trakcie swojej kariery zawodowej pani dr Stachowicz odbyła trzy staże zagraniczne, miesięczy w Proteomics Facility, Barcelona Biomedical Research Institute (2015), trzymiesięczny w Instytucie Biochemii Maxa Plancka w Martinsried (2017), oraz roczny staż podoktorski w Heart Institute, Cedars-Sinai Medical Center, Los Angeles.

OCENA FORMALNA WNIOSKU

Dr Aneta Stachowicz jako osiągnięcie naukowe zatytułowane **„Zastosowanie metod proteomicznych do poszukiwania molekularnych mechanizmów wpływających na fenotypowe różnicowanie komórek w chorobach układu krążenia o podłożu zapalnym”**, będące podstawą do ubiegania się o stopień naukowy doktora habilitowanego nauk medycznych i nauk o zdrowiu w dyscyplinie nauki medyczne, przedstawiła cykl trzech prac oryginalnych:

1. Stachowicz A, Wiśniewska A, Kuś K, Białas M, Łomnicka M, Totoń-Żurańska J, Kiepus A, Stachyra K, Suski M, Bujak-Giżycka B, Jawień J, Olszanecki R. Diminazene Aceturate Stabilizes Atherosclerotic Plaque and Attenuates Hepatic Steatosis in apoE-Knockout Mice by Influencing Macrophages Polarization and Taurine Biosynthesis. *Int J Mol Sci.* 2021;22(11):5861. doi: 10.3390/ijms22115861
2. Stachowicz A, Pandey R, Sundararaman N, Venkatraman V, Van Eyk JE, Fert-Bober J. Protein arginine deiminase 2 (PAD2) modulates the polarization of THP-1 macrophages to the anti-inflammatory M2 phenotype. *J Inflamm (Lond).* 2022;19(1):20. doi: 10.1186/s12950-022-00317-8.
3. Stachowicz A, Sadiq A, Walker B, Sundararaman N, Fert-Bober J. Treatment of human cardiac fibroblasts with the protein arginine deiminase inhibitor BB-CI-amidine activates the Nrf2/HO-1 signaling pathway. *Biomed Pharmacother.* 2023;167:115443. doi: 10.1016/j.biopha.2023.115443.

Wszystkie prace dotyczą mechanizmów molekularnych stojących u podłoża różnicowania komórek układu odpornościowego – makrofagów lub tkanki łącznej – fibroblastów, które towarzyszy przebiegowi schorzeń takich jak miażdżycy, niealkoholowe stłuszczenie wątroby oraz włóknienie niewydolnego mięśnia sercowego. We wszystkich pracach zainteresowanie Habilitantki skupia się na zmianach proteomu wywołanych ingerencją w aktywność białek uczestniczących w procesie różnicowania. Wobec powyższych stwierdzeń, artykuły spełniają przesłankę spójności tematycznej, określoną w art. 219, ust 2, pkt b ustawy Prawo o Szkolnictwie Wyższym i Nauce. Artykuły zostały opublikowane w czasopismach indeksowanych w bazie JCR, oraz w roku opublikowania były ujęte w części A wykazu czasopism sporządzonego przez Ministerstwo Edukacji i Nauki, co również pozostaje w zgodzie z zapisem wyżej wymienionej ustawy.

W artykułach wchodzących w skład osiągnięcia naukowego dr Aneta Stachowicz jest pierwszym autorem. Zgodnie z przedstawioną przez Habilitantkę informacją, jej wkład w powstanie prac obejmował nie tylko przeprowadzenie części istotnych eksperymentów, ale także pracę koncepcyjną nad powstaniem projektu, analizę i interpretację uzyskanych danych doświadczalnych a także przygotowanie manuskryptów. Oznacza to, że rolę Kandydatki w powstaniu omawianych prac należy

uznać za wiodącą. Dołączone do wniosku oświadczenia pozostałych współautorów prac, szczegółowo wskazujące ich udział w pracach zespołu badawczego, pozostają w zgodzie z powyższą konkluzją.

Dane bibliometryczne osiągnięcia naukowego:

Liczba publikacji: 3

Liczba publikacji w czasopismach należących do Q1 (wg JCR): 2

Liczba publikacji w czasopismach należących do Q2 (wg JCR): 1

Suma Impact Factor: **18,808**

OCENA MERYTORYCZNA OSIĄGNIĘCIA NAUKOWEGO

Zainteresowania naukowe Habilitantki koncentrują się wokół zmian fenotypowych makrofagów i fibroblastów, związanych z etiopatologią chorób układu krążenia o podłożu zapalnym. Schorzenia te, wśród nich miażdżyca i niewydolność serca, stanowią obecnie, zwłaszcza w krajach wysoko rozwiniętych, niezwykle istotny problem medyczny i społeczny, często traktowany wręcz jako epidemia. Częstość występowania, ryzyko poważnych powikłań i przedwczesnego zgonu wiążą się też z poważnym obciążeniem systemów opieki zdrowotnej.

Badania mechanizmów molekularnych progresji stanu zapalnego u chorych, które mają potencjał wypracowania skuteczniejszej profilaktyki z jednej strony, a nowych strategii terapeutycznych z drugiej, jest pożądane jako kierunek badań biomedycznych. Włączenie do badań technik umożliwiających uzyskanie wielkoskalowych danych i ich skuteczną analizę jest znakiem czasu i stwarza nadzieję na praktyczne wykorzystanie uzyskanych wyników. Należy zatem docenić kierunek badań naukowych Habilitantki i jej osiągnięcia naukowe, przedstawione jako uzasadnienie ubiegania się o stopień naukowy doktora habilitowanego nauk medycznych.

W ostatnich latach sporo uwagi poświęca się komórkom odpornościowym, które w elastyczny sposób reagują na zmiany warunków mikrośrodowiska, co pozwala na modyfikację ich działania i tym samym regulację odpowiedzi odpornościowej organizmu. Powstają w ten sposób istotne punkty kontroli immunologicznej (immune check-points). Takim zmianom, którym podlegają makrofagi, przygląda się w swoich badaniach Habilitantka. Jej badania dotyczą analizy makrofagów o fenotypie prozapalnym (M1), zaangażowanych w rozwój niestabilnych blaszek miażdżycowych, uzyskiwanych *in vitro* poprzez stymulację komórek THP-1 lipopolisacharydem, w porównaniu do makrofagów M2 o fenotypie przeciwzapalnym, powstających w efekcie działania IL-4. Drugim rodzajem komórek, których różnicowanie śledzi Habilitantka, są fibroblasty przekształcające się w miofibroblasty związane z włóknieniem mięśnia sercowego pod wpływem stresorów (m. in. TGF- β). Znaczące miejsce w badaniach Habilitantki ma zastosowanie analiz proteomicznych. W tej dziedzinie doświadczenie i kompetencje Kandydatki są znaczące, poczynając od pracy dyplomowej przygotowanej pod kierunkiem prof. Silberinga, poprzez staże naukowe w Instytucie Maxa Plancka we współpracy z profesorami Wiśniewskim i Mannem oraz w grupie profesor Justyny Fert-Bober w Los Angeles.

Autorka formułuje cel swoich badań jako poszukiwanie molekularnych mechanizmów wpływających na fenotypowe różnicowanie komórek w chorobach układu krążenia o podłożu zapalnym, przy zastosowaniu najnowocześniejszych metod proteomicznych, w tym

- Polaryzacji makrofagów do fenotypu prozapalnego M1 i przeciwzapalnego M2 w miażdżycy
- Różnicowania fibroblastów serca do miofibroblastów

Pierwszy z projektów wskazanych jako część osiągnięcia naukowego (**Diminazene Aceturate Stabilizes Atherosclerotic Plaque and Attenuates Hepatic Steatosis in apoE-Knockout Mice by Influencing Macrophages Polarization and Taurine Biosynthesis, IJMS 2021**) dotyczy wpływu aktywatora enzymu

konwertującego angiotensynę-2 (pochodnej diminazenu, DIZE) na parametry stanu zapalnego u myszy apoE^{-/-} traktowanych jako zwierzęcy model rozwoju miażdżycy, z towarzyszącą chorobą tłuszczeniową wątroby. Podanie zwierzętom diminazenu, według konkluzji Autorki, nie ograniczyło rozwoju miażdżycy, ale zmniejszyło stłuszczenie wątroby, jej uszkodzenie (obniżony poziom ALAT) oraz poziom triglicerydów w krążeniu, zwiększając jednocześnie poziom przeciwoaterogennych HDL. Autorka opisuje także efekt ustabilizowania blaszki miażdżycowej, zmniejszenia liczby makrofagów i przekierowania ich fenotypu w kierunku przeciwzapalnych M2.

Analiza proteomu wątroby wykazała zmiany ekspresji 49 białek po podaniu zwierzętom DIZE. Spośród nich autorka skupia się wyłącznie na białku zaangażowanym w biosyntezę tauryny. Tu, w opisie osiągnięcia, mamy do czynienia z co najmniej lapsusem. Uznanie tauryny za „najliczniej występujący aminokwas u ssaków i podstawowy regulator procesów biologicznych” w najlepszym wypadku należy uznać za daleko idący skrót myślowy. Wniosek, że wzrost biosyntezy tauryny pod wpływem DIZE można uznać jeden z mechanizmów zmiany polaryzacji makrofagów oparty jest na pojedynczym doniesieniu literaturowym i nie wynika z zaprezentowanych danych doświadczalnych. Co więcej, w oryginalnym artykule konkluzje dotyczące działania DIZE ograniczają się do wskazania stabilizacji blaszki miażdżycowej i ograniczenia stłuszczenia wątroby. Pewien niedosyt budzi także ograniczenie dyskusji na temat zmian w proteomie do jednego (w oryginalnej pracy dwóch) spośród 49 zidentyfikowanych w badaniach białek.

W kolejnej pracy (**Protein arginine deiminase 2 (PAD2) modulates the polarization of THP-1 macrophages to the anti-inflammatory M2 phenotype. J Inflamm (Lond). 2022**) Habilitantka rozważa udział deiminazy argininy białkowej w polaryzacji komórek THP1 do makrofagów. Znowu mamy do czynienia z pewną niestarannością opisu: cytrulina nie jest „naładowana neutralnie”, a nie jest obdarzona ładunkiem, w reakcji nie mamy do czynienia z „utrata argininy” w białku, a utratą grupy iminowej, co skutkuje powstaniem reszty cytrulinowej. Zwiększona ekspresja enzymów PAD, a co za tym idzie, cytrulinacja, towarzyszy miażdżycy, zakrzepicy, chorobie wieńcowej i zwłóknieniu serca. Skoro tak, to włączenie do badań enzymu odpowiedzialnego za tę modyfikację potranslacyjną w kontekście zmian fenotypowych makrofagów jest uzasadnione. Analizie poddano makrofagi powstałe na skutek stymulacji komórek linii THP-1 prozapalnie – lipopolisacharydem, oraz przeciwzapalnie – IL-4. Inhibitor deiminacji (a w konsekwencji cytrulinacji), BB-CI-amidyna, spowodował spadek ekspresji TNF α i IL-6 (markerów fenotypu M1) w komórkach stymulowanych prozapalnie, a wzrost ekspresji MRC1 i ALOX15 (markerów M2) w komórkach stymulowanych przeciwzapalnie. Uzasadnia to wysnuwany w pracy wniosek o powiązaniu inhibicji PAD ze zmianą polaryzacji makrofagów w kierunku M2. Takie wnioski zostały po części potwierdzone w analizie mRNA markerów fenotypów M1 i M2 w komórkach z wyciszonym genem PAD2 (zwłaszcza w wyniku stymulacji IL-4)

Na szczególną uwagę zasługują bioinformatyczne analizy proteomu wygenerowane przy pomocy platformy PINE (Protein Interaction Network Extraction). Porównanie proteomów komórek THP-1 traktowanych lipopolisacharydem i inhibitorem PAD w porównaniu do stymulacji wyłącznie LPS-em wykazało osłabienie szlaków związanych z sygnalizacją NF κ B, transportem elektronów i degranulacją neutrofilii. Wyciszenie genu PAD2 w komórkach THP-1 prowadziło do wzmocnienia szlaków sygnałowych z udziałem interferonu, różnicowania osteoklastów i replikacji DNA. Połączenie wyciszenia genu PAD2 ze stymulacją lipopolisacharydem w większym stopniu wpłynęło na ekspresję białek związanych z cyklem komórkowym.

Kolejnym istotnym elementem prezentowanych badań jest przygotowanie szczegółowej mapy cytrulinacji. Zidentyfikowano 192 nowe miejsca modyfikacji na 152 białkach makrofagów.

Cytrulinowane białka okazały się być zaangażowane w przekazywanie sygnałów przy udziale interleukin, degranulacji neutrofilii, programowanej śmierci komórki, przetwarzaniu DNA i RNA, degradacji proteasomalnej, aktywacji płytek i przekazywania sygnałów przy udziale VEGF.

W opisie polskim razi konstruowanie liczby mnogiej w anglojęzycznej formie „PADs”, to jest niestaranność językowa. Dla zamieszczonej w autoreferacie ryciny prezentującej mapę miejsc cytrulinacji brakuje bardziej szczegółowego opisu oraz odniesienia do platformy obliczeniowej, która umożliwiła wygenerowanie danych.

Kolejna praca wchodząca w skład osiągnięcia naukowego (**Treatment of human cardiac fibroblasts with the protein arginine deiminase inhibitor BB-CI-amidine activates the Nrf2/HO-1 signaling pathway**) dotyczy różnicowania fibroblastów do miofibroblastów, ponownie w odniesieniu do enzymów PAD. W fibroblastach linii serca płodu ludzkiego stwierdzono obecność mRNA dla PAD 1, 2 i 4, z przewagą izoformy 1. Stymulacja tych komórek TGFβ prowadzi do ich różnicowania w kierunku miofibroblastów, połączonego ze zwiększeniem ekspresji izoformy 1 enzymu.

Podanie pan-inhibitora PAD skutkuje obniżeniem ekspresji enzymu (co nie jest zaskakujące) i zahamowaniem różnicowania komórek. Analiza proteomiczna wykazała zmianę ekspresji ok. 170 białek pod wpływem BB-CI-amidyny w fibroblastach niestymulowanych, i około 180 w fibroblastach stymulowanych TGFβ. Aby zidentyfikować szlaki funkcjonalne, sieci oddziaływań biologicznych i czynniki regulujące, wygenerowano mapy sieci funkcjonalnych z zastosowaniem platformy PINE. Wykazano intensyfikację metabolizmu aminokwasów oraz inhibicję szlaku przekazywania sygnałów via VEGF, SREBP i biosyntezy cholesterolu. Za kolejny istotny element zmian spowodowanych inhibicją PAD uznano aktywację szlaku kontrolowanego przez Nrf2, istotnego czynnika transkrypcyjnego zaangażowanego w regulację odpowiedzi przeciwzapalnej. Partnerem tej interakcji wydaje się być oksygenaza hemowa 1, której wzrost ekspresji także potwierdzono. Ograniczeniu zmian zwłóknieniowych pod wpływem BB-CI-amidyny towarzyszyła degradacja łańcucha kolagenu COL1A1.

Analiza cytrulinacji pozwoliła na utworzenie mapy cytrulinacji, obejmującej 68 białek miofibroblastów, wśród nich kilka nowo opisanych jako podlegające tej modyfikacji. Zidentyfikowane białka uczestniczą w szlakach sygnałowych VEGF, interleukin, degranulacji neutrofilów, przetwarzaniu i translacji DNA, degradacji proteasomalnej, odpowiedzi komórek na stres i zdolności adhezyjnych.

Podsumowanie najbardziej wartościowych wyników przedstawionego cyklu prac można sformułować następująco:

- Aktywator enzymu ACE2 – diminazen zmienił polaryzację makrofagów do fenotypu przeciwzapalnego M2 w blaszkach miażdżycowych myszy apoE, zmniejszył stłuszczenie wątroby, co było związane ze spadkiem zawartości trójglicerydów oraz enzymu ALT w wątrobie, wzrostem HDL w osoczu poziomym tauryny w wątrobie.
- Zahamowanie aktywności deiminaz argininy białkowej (PAD) za pomocą inhibitora BB-CI-amidyny lub wyciszenie genu PAD2 doprowadziło do zmniejszenia polaryzacji makrofagów do fenotypu prozapalnego M1 oraz zwiększenia polaryzacji do fenotypu przeciwzapalnego M2 w makrofagach THP-1.
- Zahamowanie PAD za pomocą inhibitora BB-CI-amidyny zmniejszyło aktywację fibroblastów do miofibroblastów oraz aktywowało szlak sygnalizacyjny Nrf2/HO-1 w fibroblastach, co może mieć znaczenie dla ochrony komórek przed uszkodzeniami oksydacyjnymi.
- Zastosowanie nowoczesnych metod proteomicznych pozwoliło na identyfikację nowych miejsc cytrulinacji w makrofagach THP-1 i miofibroblastach.

W tym miejscu chce zwrócić szczególną uwagę na znaczenie kompleksowych analiz proteomu przedstawionych w artykułach nr 2 i 3 oraz opracowanie map cytrulinacji białek. W świetle rosnącego zainteresowania interaktomem jako potencjałem komórki do uczestniczenia w interakcjach, które mogą modyfikować/regulować ich zachowanie, tego typu dane, uzyskane przy pomocy najnowocześniejszych technik spektrometrii mas i zaawansowanych platform obliczeniowych, mają ogromne znaczenie dla rozwoju wiedzy w zakresie mechanizmów molekularnych zaangażowanych w patogenezę. Także cytrulinacja jako modyfikacja potranslacyjna budzi aktualnie coraz większe zainteresowanie, szczególnie w kontekście immunogenności powstającego epitopu. Mapy miejsc cytrulinowanych białka, zarówno w makrofagach, jak i fibroblastach, mogą być przydatne w kolejnych badaniach nie tylko chorób sercowo-naczyniowych, ale też na przykład tych o podłożu autoimmunologicznym. Wyniki, o których wspominam w tym miejscu, w omówieniu osiągnięcia naukowego (autoreferacie) zostały potraktowane dość skrótowo, szczegółowe informacje i ich interesujące omówienie znajdujemy w oryginalnych artykułach. Tym niemniej ocenie recenzentkiej podlega osiągnięcie naukowe, a nie jego opis. Znaczenie przedstawionych badań dla rozwoju nauk medycznych jest bezsporne.

POZOSTAŁE OSIĄGNIĘCIA NAUKOWE

Habilitantka w swojej aktywności naukowej poza omówionym powyżej osiągnięciem wyodrębnia cztery obszary badań. Pierwszy z tych obszarów dotyczy mitochondrialnej dehydrogenazy aldehydowej i regulacji jej aktywności w modelach miażdżycy, depresji, choroby tłuszczeniowej wątroby i neurodegeneracji u myszy ApoE^{-/-} pozostających na diecie wysokotłuszczowej, a zatem w zwierzęcym modelu miażdżycy. Autorka wskazuje na zahamowanie procesów miażdżycowych i tłuszczeniowych, działanie przeciwdepresyjne i przeciwłękowe oraz poprawę obrazu histopatologicznego we wczesnych stadiach neurodegeneracji jako efekt zastosowania aktywacji badanego enzymu.

Kolejny szeroko zakrojony projekt powstał we współpracy z Instytutem Farmakologii PAN i dotyczył dysfunkcji mitochondriów w stanach depresyjnych i potencjalnego mechanizmu działania leków przeciwdepresyjnych w tym zakresie. W badaniach wykorzystano zwierzęcy model depresji, szczury poddawane stresowi prenatalnemu. Wykazano zmiany proteomu mitochondriów kory czołowej i hipokampa, obniżoną biogenezę mitochondriów jako następstwo stresu, oraz osłabienie tych niekorzystnych zmian w wyniku działania tianeptyny.

Badania mechanizmów patogenezы miażdżycy i niealkoholowego stłuszczenia wątroby, w których brała udział dr Aneta Stachowicz, dotyczyły analiz proteomu mitochondrialnego wątroby, nerek i mózgu myszy apoE^{-/-}, oraz zmian wywołanych czynnikami takimi jak (między innymi) metformina, aktywator AMP-kinazy AICAR, agmatyna, czy aktywator receptorów wolnych kwasów tłuszczowych GW9508. Realizacja projektów skupionych w powyższych obszarach została zakończona opublikowaniem 20 prac naukowych, które ukazały się w liczących się periodykach.

Aktualnie prowadzone przez Habilitantkę badania realizowane są w ramach grantu NCN Sonata i dotyczą roli mitochondrialnego siarkowodoru w przeprogramowaniu makrofagów do fenotypu przeciwwzapalnego w przebiegu miażdżycy i niealkoholowego stłuszczenia wątroby.

DANE BIBLIOMETRYCZNE I OCENA AKTYWNOŚCI NAUKOWEJ

Habilitantka jest współautorką 28 oryginalnych prac naukowych, z czego sześć zostało opublikowanych przed uzyskaniem stopnia naukowego doktora, a trzy zostały wyodrębnione jako osiągnięcie naukowe będące podstawą do ubiegania się o stopień naukowy doktora habilitowanego

nauk medycznych. Oznacza to znaczący wzrost aktywności publikacyjnej po uzyskaniu stopnia naukowego doktora. Wszystkie artykuły zostały opublikowane w czasopismach indeksowanych w bazie JCR i punktowanych w wykazach MNiSW. Sumaryczny współczynnik wpływu prac współautorstwa dr Anety Stachowicz wynosi 103,12 (w tym 18,808 artykuły stanowiące osiągnięcie naukowe). Liczba publikacji w czasopismach należących do Q1 (wg JCR): 11. Prace były cytowane 403 razy, wyłączając autocytowania – 370. Współczynnik Hirscha Kandydatki wynosi 14. Spośród 28 publikacji Habilitantka występuje w roli głównego (pierwszego lub ostatniego) autora w 12. Dr Aneta Stachowicz prezentowała wyniki swoich badań naukowych na licznych konferencjach naukowych, w większości międzynarodowych (7 wystąpień ustnych i 15 posterowych).

Habilitantka odbyła następujące **szkolenia i staże naukowe**:

- Targeted Proteomic Course 2016, Zurich
- Network Biology Workshop: Cytoscape, 2016, Kraków
- Miesięczny staż szkoleniowy w laboratorium proteomicznym CSIC?UAB Proteomics Facility, Barcelona Biomedical Research Institute, Autonomous University of Barcelona (czerwiec 2015)
- Trzymiesięczny staż Instytucie Biochemii Maxa Plancka, Martinsried – w grupie proteomicznej Matthiasa Manna (marzec-maj 2017)
- Roczny staż podoktorski w Heart Institute, Cedars-Sinai Medical Center, Los Angeles, w ramach program Bekkera finansowanego przez Narodową Agencję wymiany Akademickiej NAWA, 2019-2020)

O aktywności naukowej Habilitantki stanowią też **współprace naukowe**, oprócz wymienionych wyżej instytucji zagranicznych należy wspomnieć o Instytucie Kardiologii i Katedrze Anatomii Collegium Medicum UJ oraz Instytucie Farmakologii PAN. Współpraca z naukowymi instytucjami zagranicznymi, we wszystkich przypadkach zwieńczona opublikowaniem wspólnych prac naukowych, **stanowi o spełnieniu przesłanki zawartej w punkcie 3 art. 219 ustawy Prawo o Szkolnictwie Wyższym i Nauce**.

Dr Aneta Stachowicz uczestniczyła w realizacji trzech projektów badawczych, finansowanych na drodze konkursu przez instytucje centralne:

- „Mitochondrialna dehydrogenaza aldehydowa (ALDH2) jako punkt uchwytu dla nowych leków przeciwmiażdżycowych” (PRELUDIUM NCN N/NZ4/01145), finansowany przez Narodowe Centrum nauki (NCN), **kierownik grantu**, 2011 – 2014.
- „Powstawanie, przemiany i rola angiotensyny-(1-12) w układzie krążenia - badania w modelu nadciśnienia” (N N401 293939), finansowany przez MNiSzW, **wykonawca grantu**, 2010-2012.
- „Wpływ siarkowodoru (H₂S) wytwarzanego w mitochondriach na mechanizmy związane z przeprogramowaniem makrofagów – rola w miażdżycy i niealkoholowym stłuszczeniu wątroby” (SONATA NCN 2017/26/D/NZ4/00480), finansowany przez Narodowe Centrum nauki (NCN), **kierownik grantu**, 2018 – 2023.

W dwóch z nich, grantach Preludium i Sonata, finansowanych przez Narodowe Centrum Nauki, pełniła funkcję kierownika. Pokazuje to umiejętność przygotowywania projektów naukowych i skuteczność w staraniu się o zewnętrzne środki finansowe.

DOROBK DYDAKTYCZNY, ORGANIZACYJNY I POPULARYZATORSKI

W zakresie pracy dydaktycznej dorobek Habilitantki jest bardzo skromny, i ogranicza się do prowadzenia zajęć z przedmiotu „Farmakologia” dla studentów Wydziału Lekarskiego UJ CM w trakcie

studiów doktoranckich oraz opieki nad praktyką wakacyjną studentów. Taka sytuacja nie dziwi, zważywszy na ścieżkę zawodową Kandydatki i zatrudnienie początkowo na stanowisku naukowo-technicznym, a następnie jako adiunkta badawczego.

W zakresie działalności organizacyjnej i popularyzującej naukę, dr Aneta Stachowicz legitymuje się

- Uczestnictwem w organizacji i przeprowadzeniu Festiwalu Nauki w UJ CM.
- wygłoszeniem wykładu dla Towarzystwa Lekarskiego Krakowskiego pt. "Siarkowodór w patofizjologii i farmakologii schorzeń zapalnych oraz miażdżycy" (17.04.2019).
- Wygłoszeniem wykładu dla uczniów VIII Liceum Ogólnokształcącego w Krakowie pt. "Zawód naukowiec" (6.04.2022).
- Wywiadem o prowadzonych badaniach pt. „Kod do leczenia chorób cywilizacyjnych” zamieszczonym na stronie naukawpolsce.pl.
- Członkostwem w organizacji Human Proteome Organization (HUPO).

Należy podkreślić, że w świetle obowiązujących przepisów, osiągnięcia dydaktyczne i pozostałe wymienione w tej części recenzji nie stanowią formalnego wymogu w procedurze ubiegania się o stopień naukowy doktora habilitowanego.

KONKLUZJE

zarówno osiągnięcie naukowe dr Anety Stachowicz zatytułowane „**Zastosowanie metod proteomicznych do poszukiwania molekularnych mechanizmów wpływających na fenotypowe różnicowanie komórek w chorobach układu krążenia o podłożu zapalnym**”, jak i całość jej dorobku naukowego, należy ocenić pozytywnie. Habilitantka jawi się jako sumienny, kompetentny badacz, umiejętnie wykorzystujący nowoczesne techniki pomiarowe i obliczeniowe, skuteczny w przygotowywaniu projektów naukowych i staraniach o finansowanie badań. Należy uznać ją za eksperta w dziedzinie badań proteomicznych. Na jej dorobek naukowy składają się artykuły opublikowane w renomowanych periodykach. Prezentowane wyniki stanowią znaczący wkład w stan wiedzy i potencjał rozwojowy badań nad mechanizmami molekularnymi miażdżycy i innych chorób sercowo-naczyniowych. Stwierdzając, że **dr Aneta Stachowicz spełnia formalne i merytoryczne wymogi określone w art. 219 ust 1, pkt 2 i 3 ustawy z dnia 20 lipca 2018 roku – Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce** (Dz. U. z 2023r poz.742 ze zm.), przedkładam zatem Radzie Dyscypliny Nauki Medyczne Collegium Medicum Uniwersytetu Jagiellońskiego **wniosek o dopuszczenie Kandydatki do dalszych etapów postępowania awansowego.**