

Ocena dorobku naukowego oraz rozprawy habilitacyjnej

pt. " Opracowanie modeli badań doświadczalnych wybranych strategii terapii przeciwnowotworowych" doktor nauk biologicznych Beaty Urszuli Orzechowskiej

Ocena została wykonana na zlecenie Rady Doskonałości Naukowej.

Podstawa: Uchwała 11-17/e-216/2023

Rady Naukowej ITD im. L. Hirszfelda we Wrocławiu

Dane biograficzne

Dr n. biol. Beata Urszula Orzechowska ukończyła studia na Wydziale Nauk Przyrodniczych Uniwersytetu Wrocławskiego w 1995 roku i uzyskała tytuł magistra biologii na podstawie pracy „Terapia PADMA 28 i jej wpływ na fagocytozę *Staphylococcus aureus* 209 P przez neutrofile u dzieci cierpiących na nawracające infekcje dróg oddechowych”. Dr Orzechowska jest od 1994 roku zatrudniona w Instytucie Immunologii i Terapii Doświadczalnej PAN, Zakład Immunologii Chorób Zakaźnych, w Laboratorium Wirusologii; od 1995 roku na stanowisku asystenta, a od 2013 roku na stanowisku adiunkta. W tymże instytucie, w 2001 roku uzyskała tytuł doktora nauk biologicznych na podstawie pracy „Znaczenie wybranych cytokin w naturalnej przeciwwirusowej odporności ludzkich leukocytów krwi obwodowej”.

W okresie swojego zatrudnienia w tej jednostce, w latach od 2001 do 2011 dr Orzechowska przebywała na stażach podoktorskich na trzech różnych wydziałach Uniwersytetu Oregońskiego (Oregon Health and Science University -OHSU): Molecular Pathology w Knight Cancer Institute, Vaccine and Gene Therapy Institute (VGTI) oraz Neurological Sciences Institute-NSI. Ponadto, w 2014 dr Orzechowska odbyła także 3 miesięczny staż w Zakładzie Diagnostyki Laboratoryjnej 4 Wojskowego Szpitala Klinicznego z Polikliniką SP ZOZ we Wrocławiu, który umożliwił uzyskanie tytułu Diagnosty Laboratoryjnego, a w 2016 roku ukończyła roczne studia podyplomowe z zakresu badań klinicznych]-metodologii, organizacji i zarządzania w Medycznym Centrum Kształcenia Podyplomowego Uniwersytetu Jagiellońskiego w Krakowie.

Osiągnięcie naukowe

Kandydatka przedłożyła cykl 8 prac składających się na rozprawę habilitacyjną pod wspólnym tytułem „Opracowanie modeli badań doświadczalnych wybranych strategii terapii przeciwnowotworowych”. Ich łączny wskaźnik oddziaływania wynosi 32,788, a ilość cytowań wynosi 215 (wg Scopus). W sześciu pracach Habilitantka jest pierwszym autorem. Siedem publikacji to oryginalne doniesienia, ósmą pracę stanowi artykuł przeglądowy. Przedstawiony do recenzji cykl prac dotyczy zarówno badań o charakterze podstawowym jak i aplikacyjnym, i jest podzielony na trzy główne nurty tematyczne:

1. Badania z wykorzystaniem modeli zakażeń makaków wirusami SIV lub RRV jako strategia badawcza patogenyzy wirusowych zakażeń u ludzi.
2. Badania z ogólnoustrojowym dostarczania wirusów onkolitycznych o potencjale onkoterapeutycznym poprzez określenie immunologicznych mechanizmów w odpowiedzi na infekcję VSV.
3. Badania związków naturalnych jako strategii leczenia nowotworów.

Zgodnie z dossier przewodu habilitacyjnego, Autorka uzyskała pisemną zgodę współautorów na ujęcie prac w rozprawie habilitacyjnej.

Prace te to:

I. Orzechowska BU, Powers MF, Sprague J, Li H, Yen B, Searles RP, Axthelm MK, Wong SW.: Rhesus macaque rhadinovirus-associated non-Hodgkin lymphoma: animal model for KSHV-associated malignancies.; Blood. 2008 Nov 15;112(10):4227-34. doi: 10.1182/blood-2008-04-151498.

II. Orzechowska BU, Manoharan M, Sprague J, Estep RD, Axthelm MK, Wong SW☒.: Viral interleukin-6 encoded by rhesus macaque rhadinovirus is associated with lymphoproliferative disorder (LPD).; J Med Primatol. 2009 Oct;38 Suppl 1: 2-7. doi: 10.1111/j.1600-0684.2009.00369.

III. Orzechowska BU☒, Jędryka M, Zwolińska K, Matkowski R.: VSV based virotherapy in ovarian cancer: the past, the present and ...future?; J Cancer. 2017 Jul 22;8(12):2369-2383. doi: 10.7150/jca.19473.

IV. Tomczyk T, Wróbel G, Chaber R, Siemieniec I, Piasecki E, Krzystek-Korpacka M, Orzechowska BU☒.: Immune Consequences of in vitro Infection of Human Peripheral Blood Leukocytes with Vesicular Stomatitis Virus.; J Innate Immun. 2018;10(2):131-

ACW

144. doi: 10.1159/000485143.

V. Orzechowska B☒, Chaber R, Wiśniewska A, Pajtasz-Piasecka E, Jatzak B, Siemieniec I, Gulanowski B, Chybicka A, Błach-Olszewska Z.: Baicalin from the extract of *Scutellaria baicalensis* affects the innate immunity and apoptosis in leukocytes of children with acute lymphocytic leukemia.; *Int Immunopharmacol.* 2014 Dec;23(2):558-67. doi: 10.1016/j.intimp.2014.10.005.

VI. Orzechowska BU☒, Wróbel G, Turlej E, Jatzak B, Sochocka M, Chaber R.: Antitumor effect of baicalin from the *Scutellaria baicalensis* radix extract in B-acute lymphoblastic leukemia with different chromosomal rearrangements.; *Int Immunopharmacol.* 2020 Feb;79:106114. doi: 10.1016/j.intimp.2019.106114.

VII. Bębenek E☒, Jastrzębska M, Kadela-Tomanek M, Chrobak E, Orzechowska B, Zwolińska K, Latocha M, Mertas A, Czuba Z, Boryczka S.: Novel Triazole Hybrids of Betulin: Synthesis and Biological Activity Profile.; *Molecules.* 2017 Nov 1;22(11):1876. doi: 10.3390/molecules22111876.

VIII. Orzechowska BU, Kukowska-Latallo JF, Coulter AD, Szabo Z, Gamian A, Myc A☒.: Nanoemulsion-based mucosal adjuvant induces apoptosis in human epithelial cells.; *Vaccine.* 2015 May 5;33(19):2289-2296. doi: 10.1016/j.vaccine.2015.03.002

Rozprawa habilitacyjna składa się z 11 stron, na których Habilitantka omawia zagadnienia będące przedmiotem rozprawy; rozprawa zawiera również krótką sekcję opisującą aktualne i przyszłe kierunki rozwoju oraz wykaz piśmiennictwa.

W pierwszej części referatu (publikacja I) Habilitantka opisuje laboratoryjny model zwierzęcy celem lepszego zrozumienia mechanizmu nowotworzenia wskutek infekcji wirusami wirusem ludzkiego nabytego niedoboru odporności (Human Immunodeficiency Virus, HIV) oraz mięsaka Kaposiego (Kaposi sarcoma-associated herpesvirus –KSHV) i spokrewnione z ludzkimi wirusami HIV i KSHV wirusy zwierzęce. Jako że KSHV nie ulega replikacji w żadnym gatunku zwierząt, w badaniach użyto makaków królewskich zakażonych rhadinowirusem (RRV) w układzie immunokompetentnym oraz upośledzonej odporności (koinfekcja Simian Immunodeficiency Virus, SIV). Badania te wykazały, że koinfekcja oboma wirusami prowadzi do rozwoju objawów chorobowych podobnych do tych które występują u ludzi zakażonych HIV i KSHV. Wykazano

rownież podobieństwo sekwencji DNA RRV i KSHV oraz wyższy poziom wirerii RRV zwierząt z niedoborem odporności wskutek infekcji SIV wskazujący na utratę mechanizmu utrzymującego RRV w fazie latentnej. Reasumując, badanie te potwierdziły użyteczność modelu zwierzęcego w badaniu patogenezy zakażeń ludzkim wirusem KSHV.

W drugiej pracy z tego samego nurtu badawczego (publikacja II), Habilitantka wykorzystała preparaty tkankowe ze zwierzęcia, u którego opisano zwłóknienie zaotrzewnowe. Badanie immunohistochemiczne tkanek zwierzęcia zakażonego SIV i RRV u którego wykryto zmiany limfoproliferacyjne w szpiku kostnym wykazało obecność vIL-6 w nerkach oraz potwierdziło rolę wirusowej interleukiny 6 (vIL-6) kodowanej przez RRV, która wykazuje częściową zbieżność sekwencji z małpią interleukiną 6 w postępie choroby.

W drugiej części autoreferatu, dr Orzechowska opisała wybrane genetyczne i immunologiczne mechanizmy, które umożliwiają tropizm wirusa pęcherzykowego zapalenia jamy ustnej (VSV) celem określenia jego potencjału w terapii nowotworów. VSV, podobnie jak inne wirusy onkolityczne, jest przedmiotem intensywnych badań; obecnie prowadzonych jest kilkanaście badań klinicznych u pacjentów z guzami litymi.

W pracy przeglądowej (publikacja III) Habilitantka przedstawia perspektywy potencjalnego użycia wirusa VSV w terapii raka jajnika. Rak jajnika, jak wiele innych nowotworów zawiera populację komórek słabo zróżnicowanych, które pozostają odporne na leczenie tradycyjne (m.in. chemioterapia) oraz pozostają niewidoczne dla limfocytów T. Zmiana szlaków sygnalizacyjnych, w tym aktywności PTEN nie tylko przyczynia się do rozwoju, podtrzymania i proliferacji CSC, ale także osłabia produkcję interferonu, co przyczynia się do zwiększonej replikacji wirusa w komórce, co potwierdza potencjał VSV w terapii celowanej CSC. Wspomniane są też pokrótce przyszłe kierunki rozwoju technologii VSV takie jak konieczność zwiększenia specyficzności, profilu bezpieczeństwa, a także metod, które pozwolą uniknąć szybkiej eliminacji wirusa przez system immunologiczny.

W pracy oryginalnej (publikacja IV) Dr Orzechowska wykazała rolę cytokin we wrażliwości na zakażenie leukocytów VSV, a szczególności podwyższonego stężenia TNF- α w próbkach pochodzących od osób silnie podatnych na zakażenie oraz konsekwencji immunologicznej replikacji wirusa w postaci zwiększonej ilości interleukiny-2 (IL-2R) oraz interferonu alfa (IFN- α), a także spadku wydzielania RANTES. W ramach tej tematyki,

Habilitanka pełniła rolę promotora pomocniczego w pracy doktorskiej dr Tomasza Tomczyka pt.: „Immunologiczne następstwa zakażenia *in vitro* leukocytów krwi obwodowej człowieka wirusem pęcherzykowego zapalenia jamy ustnej”

W trzeciej, ostatniej części został opisany cykl prac opisujący potencjał związków pochodzenia roślinnego w terapii nowotworów. W omawianych pracach Autorka zwraca uwagę na możliwe implikacje terapeutyczne przeprowadzonych badań. Świadczy o tym zarówno ocena żywotności limfocytów białaczkowych przy braku wpływu na limfocyty prawidłowe po zastosowaniu bajkaliny, substancji wyizolowanej z tarczycy bajkalskiej (publikacja V). Logiczną kontynuacją wiedzy Habilitantki z zakresu patobiologii VSV jest ocena wpływu ekstraktu roślinnego zawierającego bajkalinę na infekcję VSV; pokrótce bajkalina obniżała potencjał replikacyjny VSV co mogło mieć związek ze zmniejszonym wydzielaniem cytokin prozapalnych przez leukocyty. Ponadto, w kolejnej pracy (publikacja VI), Autorka wykazała antynowotworowe działanie ekstraktu tarczycy bajkalskiej na blasty białaczkowe, a w szczególności linie zawierające rearanżacje MLL i PBX1, tak więc podłoże genetyczne może odgrywać ważną rolę w potencjalnym klinicznym zastosowaniu substancji.

W kolejnej pracy z cyklu (publikacja VI), przedstawione jest antynowotworowe działanie dwóch pochodnych betuliny (triterpenoidu wyizolowanego z kory brzozy), które w testach z użyciem linii raka jajnika hamowały proliferację skuteczniej niż betuliny jednocześnie wykazując mniejszą toksyczność. Ostatnia z prac (publikacja VII) przedstawionych w referacie opisuje indukcję apoptozy przez nanoemulsję W805EC, adjuwant śluzowkowy, w komórkach nabłonka. Inkubacja nanoemulsji z linią raka płaskonabłonkowego indukowała szlaki immunogennej śmierci komórki, a także szlaki autofagii i nekrozy, co wiąże się z procesowaniem i prezentacją antygenów z umierających komórek przez komórki prezentujące antygen, np. Komórki dendrytyczne. Reasumując właściwości immunogenne nanoemulsji mają potencjalne zastosowanie w szczepionkach przeciwnowotworowych.

Doniesienia składające się na rozprawę habilitacyjną zostały poddane starannej recenzji w czasopiśmie o zasięgu międzynarodowym, nie ma zatem konieczności poddawania ich ponownej szczegółowej ocenie. Odnosnie warsztatu badawczego oraz do wartości uzyskanych wyników – godne uwagi jest zróżnicowanie technik badawczych (hodowla komórkowa, techniki namnażania

i oznaczania miana wirusów, transfekcja, hybrydyzacja in situ, techniki barwienia immuno- i histochemiczne, wielokolorowa cytometria przepływowa, wybrane techniki biologii molekularnej), właściwa dokumentacja wyników oraz umiejętność krytycznego zestawiania danych z różnych eksperymentów.

Podsumowując, przedstawiony cykl prac z dziedzin wirusologii, immunologii i onkologii stanowi osiągnięcie naukowe zawierające implikacje praktyczne dla opracowania nowych form terapii przeciwnowotworowych i spełnia wymogi stawiane kandydatom ubiegającym się o stopień doktora habilitowanego, zgodnie z uchwałą 16/e-211/2022 Rady Naukowej IIDT z dnia 13 października 2022.

Ocena dorobku naukowego

Dorobek naukowy dr Beaty Orzechowskiej, podobnie jak i osiągnięcia naukowe, jest w większości tematycznie ukierunkowany w zakresie głównych nurtów badawczych ujętych w autoreferacie i stanowi 36 publikacji o łącznym IF=108,713, łącznej liczbie cytowań 476 (Scopus) i 417 (Web of Science), a indeks Hirscha Habilitantki wynosi 11. Dominująca liczba prac ukazała się po uzyskaniu przez Habilitantkę stopnia doktora; w 13 pracach jest pierwszym autorem. Większość prac została opublikowana w języku angielskim, w tym spora część w czasopismach o zasięgu międzynarodowym. Łączna wartość IF prac, które nie zostały włączone do cyklu wynosi 75,925 o łącznej liczbie cytowań 261 (Scopus) i 216 (Web of Science). Ponadto, dr Orzechowska uczestniczyła w 25 konferencjach, z czego 14 zagranicznych, w trakcie których prezentowała doniesienia zarówno w formie prezentacji ustnych i jak i plakatowych. Zakres jej działalności naukowej jest powiązany z problematyką naukową jednostki, w której pracuje, a także jednostek naukowych, których odbyła staże naukowe, co świadczy o jej wartości jako członka zespołu badawczego.

Dr Beata Orzechowska aktualnie bierze udział w 3 projektach krajowych jako kierownik podzadania oraz uczestniczyła w 4 zakończonych już projektach krajowych (kierownictwo w 1 grantu krajowego) i 4 grantach zagranicznych (Stany Zjednoczone). Habilitantka posiada członkostwo w w Krajowej Izbie Diagnostów Laboratoryjnych oraz w Stowarzyszeniu na Rzecz Dobrej Praktyki Badań Klinicznych oraz była członkinią 3 innych organizacji o tematyce zbieżnej z nurtem zainteresowań naukowych (2 zagraniczne). Dr Orzechowska jest recenzentem (16

zrecenzowanych prac) w czasopismach o zasięgu międzynarodowym oraz nawiązała liczne współprace naukowe z krajowymi ośrodkami naukowymi oraz sektorem gospodarczym, będąc współautorem 1 zgłoszenia patentowego.

Podsumowując, dorobek naukowy dr Orzechowskiej, odpowiada wymogom stawianym kandydatom do stopnia doktora habilitowanego.

Ocena działalności dydaktycznej i organizacyjnej

Habilitantka prowadziła zajęcia z biologii komórki dla studentów Instytutu Chemii, Ochrony Środowiska i Biotechnologii, Uniwersytet Jana Długosza w Częstochowie oraz fizjologii zwierząt i wirusologii medycznej dla studentów Uniwersytetu Wrocławskiego (zajęcia w języku angielskim). Dr Orzechowska prowadziła wykłady i seminaria z zakresu wirusologii w jednostce, w której jest zatrudniona oraz 4 wykłady popularyzatorskie w ramach Dolnośląskiego Festiwalu Sztuki, wykład zorganizowany dla Centrum Rozwoju Społecznego we Wrocławiu oraz Polskiego Towarzystwa Diagnostów Laboratoryjnych, a także jest autorem 2 artykułów o charakterze popularyzatorskim. Habilitantka była promotorem pomocniczym 1 pracy doktorskiej, promotorem 5 prac magisterskich lub licencjackich, opiekunem 1 pracy magisterskiej oraz opiekunem staży studenckich. Ponadto, Dr Orzechowska brała aktywny udział w tworzeniu i organizacji pracy Laboratorium Diagnostyki Zakażeń SARS-CoV-2 w Instytucie Immunologii i Terapii Doświadczalnej, im. Ludwika Hirszfelda PAN podczas trwającej pandemii oraz pełniła funkcje Kierownika Działu Badań i Rozwoju, w Ogólnopolskim Centrum Genetyki REX Company S.A.

Wniosek końcowy

Dorobek naukowy, organizacyjny i dydaktyczny dr Beaty Orzechowskiej odpowiada wymaganiom stawianym kandydatom do stopnia doktora habilitowanego. Habilitantka jest aktywnym uczestnikiem badań o zasięgu krajowym i międzynarodowym i posiada istotne osiągnięcia naukowe. Umiejętność współpracy z zespołami badawczymi i łączenia zagadnień z różnych nurtów badawczych, a także praktyczna znajomość technik badawczych stawia dr Orzechowską w pozycji do prowadzenia niezależnego zespołu badawczego.

Na podstawie powyższej oceny rekomenduję powyższe osiągnięcie i dorobek naukowy dr Orzechowskiej jako spełniające kryteria wymagane dla nadania stopnia doktora habilitowanego, określone w art. 221 ust. 1 ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce

określone w art. 221 ust. 1 ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 2021 r. poz. 478 z późn. zm.), dotyczącą dokonywania oceny formalnej wniosków w sprawie nadania stopnia doktora habilitowanego.

Göteborg, 14 maja 2024



Dr hab. Anna Karolina Kozłowska

Uniwersytet Medyczny im. K Marcinkowskiego w Poznaniu