



Prof. dr hab. Wojciech Rzeski
Zakład Biologii Medycznej,
Instytut Medycyny Wsi im. Witolda Chodźki w Lublinie

**Ocena osiągnięcia naukowego „Opracowanie modeli badań doświadczalnych
wybranych strategii terapii przeciwnowotworowych” oraz dorobku naukowego dr n.
biol. Beaty Orzechowskiej w związku z postępowaniem o nadanie stopnia doktora
habilitowanego w dziedzinie nauk ścisłych i przyrodniczych, dyscyplina nauki
biologiczne**

Przebieg pracy zawodowej

Pani dr Beata Orzechowska jest absolwentką Wydziału Nauk Przyrodniczych Uniwersytetu Wrocławskiego, gdzie w 1995 roku uzyskała tytuł magistra biologii. Stopień doktora nauk biologicznych uzyskała w 2001 roku na podstawie rozprawy doktorskiej zatytułowanej „Znaczenie wybranych cytokin w naturalnej przeciwwirusowej odporności ludzkich leukocytów krwi obwodowej”, obronionej w Instytucie Immunologii i Terapii Doświadczalnej PAN we Wrocławiu. Promotorem rozprawy doktorskiej była Pani Prof. dr hab. Zofia Błach-Olszewska. Należy podkreślić, że dr Orzechowska posiada szereg tytułów zawodowych - Diagnosty Laboratoryjnego, Europejskiego Specjalisty Chemii Klinicznej i Medycyny Laboratoryjnej oraz Międzynarodowego Technologa w zakresie biologii molekularnej. Od 1995 roku do chwili obecnej jest zatrudniona w Laboratorium Wirusologii w Zakładzie Immunologii Chorób Zakaźnych, Instytutu Immunologii i Terapii Doświadczalnej PAN we Wrocławiu. W tej jednostce przeszła kolejne etapy kariery naukowej pracując początkowo na stanowisku asystenta, a od 2013 roku na stanowisku adiunkta. Dodatkowo, w 2019 roku dr Orzechowska pracowała również na stanowisku adiunkta w Katedrze Fizjologii i Neurobiologii Molekularnej Uniwersytetu Wrocławskiego.

Ocena osiągnięcia naukowego

Osiągnięcie naukowe przedstawione przez dr n. biol. Beatę Orzechowską w postępowaniu o nadanie stopnia naukowego doktora habilitowanego stanowi cykl ośmiu spójnych tematycznie publikacji pod wspólnym tytułem „Opracowanie modeli badań doświadczalnych wybranych strategii terapii przeciwnowotworowych”. Publikacje wchodzące w skład osiągnięcia naukowego to siedem oryginalnych prac doświadczalnych oraz jedna praca przeglądowa, które zostały opublikowane w latach 2008-2020; w sześciu pracach Habilitantka jest pierwszym autorem z czego w trzech pracach jednocześnie autorem korespondencyjnym. W jednej pracy jest autorem korespondencyjnym, a w jednej pracy realizowała część zadania badawczego. Sumaryczny współczynnik oddziaływania (IF) wymienionych prac wynosi 32,788, co stanowi 273 punkty ministerialne. Z załączonych oświadczeń współautorów wynika wiodący udział Habilitantki w opracowaniu koncepcji i hipotez badawczych, planowania i wykonania doświadczeń, analizy wyników oraz opracowania manuskryptów w siedmiu pracach stanowiących osiągnięcie naukowe.

Swoje osiągnięcie naukowe dr Beata Orzechowska podzieliła na trzy główne zagadnienia badawcze. Dotyczą one badań przedklinicznych mających na celu opracowanie nowych modeli doświadczalnych patogenezы wirusowych zakażeń u ludzi, strategii ogólnoustrojowego dostarczania wirusów onkolitycznych oraz przeciwnowotworowego działania naturalnych substancji pochodzenia roślinnego.

Pierwsze dwie prace cyklu składającego się na osiągnięcie naukowe Habilitantki dotyczą opracowania zwierzęcego modelu badawczego w celu określenia mechanizmu powstawania nowotworów wywołanych infekcjami wirusowymi. Dr Orzechowska opracowała model badawczy wykorzystujący makaki królewskie oraz zwierzęce wirusy niedoboru odporności SIV i RRV, odpowiednikami ludzkich wirusów wywołujących AIDS i mięsaka Kaposiego (HIV i KSHV). Badaczka wykazała, że koinfekcja makaków wirusami SIV i RRV może prowadzić do rozwoju objawów chorobowych podobnych do ich ludzkich odpowiedników. Należy podkreślić, że opracowany przez dr Orzechowską model badawczy stanowi cenne narzędzie w przedklinicznych badaniach mechanizmów patogenezы infekcji ludzi wirusami HIV i KSHV, a wyniki tych badań zostały opublikowane w prestiżowym czasopiśmie Blood. Następnie, na tym polu Habilitantka kontynuowała badania mające na celu określenie roli wirusowej interleukiny 6 (vIL6) w rozwoju zmian proliferacyjnych. W pracy opublikowanej w Journal of Medical Primatology przedstawiono histopatologiczną analizę zmian limfoproliferacyjnych wywołanych koinfekcją makaków wirusami SIV i RRV. Nieprawidłowe proliferacje komórkowe u

zwierząt zakażonych badanymi wirusami obejmowały powstawanie chłoniaków pozawęzłowych oraz włókniakowatość zaotrzewnową. Analiza hybrydyzacji in situ wykazała w tych zmianach proliferacyjnych obecność wirusa RRV kodującego wirusową interleukinę 6. Dodatkowo, metodą immunofluorescencji potwierdzono obecność vIL6 co potwierdza udział tej cytokiny w transformacji nowotworowej indukowanej wirusami SIV i RRV. W związku z tym, należy zgodzić się z Habilitantką, że uzyskane wyniki jednoznacznie wskazują na wysoką użyteczność opracowanego zwierzęcego modelu makaków zakażonych wirusami RRV/SIV jako udoskonalonej strategii badań patogenyzy zakażeń wirusami HIV/KSHV u ludzi.

Kolejne publikacje osiągnięcia naukowego dr Beaty Orzechowskiej dotyczą strategii ogólnoustrojowego dostarczania wirusów onkolitycznych o potencjale onkoterapeutycznym. Jedną z obiecujących strategii przeciwnowotworowych jest zastosowanie wirusów onkolitycznych, które selektywnie replikują się w komórkach nowotworowych prowadząc do ich lizy. Jednym z tzw., naturalnych wirusów onkolitycznych jest wirus pęcherzykowatego zapalenia jamy ustnej zwierząt kopytnych (VSV). Jak wykazano, ten łagodny dla ludzi wirus preferencyjnie zakaża i niszczy komórki nowotworowe. W pracy przeglądowej opublikowanej w czasopiśmie *Journal of Cancer* Habilitantka dokonała podsumowania stanu wiedzy na temat biologii raka jajnika, rolę nowotworowych komórek macierzystych w rozprzestrzenianiu się nowotworu, aktualnych metod terapeutycznych w tym zastosowania wirusów onkolitycznych. Opisano również kluczowe szlaki odpowiedzi genetycznej i immunologicznej zaangażowane w kancerogenezę raka jajnika oraz możliwości zastosowania wirusa VSV w jego terapii. W kontekście dalszego rozwoju terapii onkolitycznych, Habilitantka zwraca uwagę na problemy związane z potencjalnym neurotropizmem wirusów oraz zmienną wrażliwością komórek nowotworowych infekowanych VSV. Z tego względu dr Orzechowska podjęła badania nad ważnym aspektem terapii onkolitycznej – drogą podania wirusa do organizmu. W następnej pracy cyklu, Badaczka określiła efektywność dożylną terapii wirusem VSV z oceną populacji leukocytów podatnych na zakażenie oraz skutków jakie wywołuje w organizmie. Wyniki tych badań zostały opublikowane w czasopiśmie *Journal of Innate Immunity*. Podsumowując ten wątek badań należy stwierdzić, że mimo dużego potencjału terapeutycznego, konieczne są dalsze badania dotyczące skutków ubocznych i bezpieczeństwa stosowania wirusów onkolitycznych w terapii nowotworów.

W kolejnych pracach cyklu, dr Orzechowska skupiła się na poszukiwaniu nowych substancji pochodzenia roślinnego o aktywności chemoprewencyjnej. Tego typu substancje

jako potencjalne leki mogą stanowić alternatywę lub uzupełnienie klasycznych chemioterapeutyków, często obarczonych niespecyficzną cytotoksycznością. W pracy opublikowanej w czasopiśmie *International Immunopharmacology*, Habilitantka przedstawiła wyniki dotyczące przeciwnowotworowej aktywności bajkaliny, flawonoidu wyizolowanego z korzenia tarczycy bajkalskiej (*Scutellaria baicalensis*). Badaczka wykazała, że bajkalina ma działanie apoptotyczne wobec komórek ostrej białaczki limfatycznej, chłoniaka oraz szpiczaka przy jednoczesnym braku cytotoksyczności wobec prawidłowych leukocytów krwi obwodowej. Dodatkowo, wykazano, że bajkalina stymulowała niespecyficzną odporność przeciwwirusową, wykazywała zdolność modulacji układu odpornościowego oraz działała antyproliferacyjnie i proapoptotycznie wobec leukocytów białaczkowych uzyskanych od pacjentów, przy braku indukcji apoptozy leukocytów pobranych od osób zdrowych. W kolejnej pracy opublikowanej w *International Immunopharmacology*, Habilitantka wykazała, że mechanizm przeciwbiałaczkowego działania bajkaliny związany jest z indukcją śmierci apoptotycznej poprzez aktywację kaspazy 3/7 oraz hamowanie aktywacji kinazy syntazy glikogenu-3 β (GSK-3 β), która jest czynnikiem indukującym proliferację komórek białaczkowych z rearanżacjami genu MLL. Badaczka wykazała również, że bajkalina wpływała na podwyższenie poziomu inhibitora kinazy (CDK1) p27Kip1, co korelowało z hamowaniem cyklu komórkowego w fazie G0/G1. W konkluzji Habilitantka stwierdza, że ponieważ efekt ten obserwowano głównie w komórkach białaczkowych z translokacjami genu MLL, to bajkalina ma szansę zastosowania w spersonalizowanej formie leczenia opartego na genetycznym podłożu choroby pacjenta.

Kolejnym przedmiotem naukowego zainteresowania dr Orzechowskiej były pochodne betuliny, naturalnego trójterpenu wyizolowanego z kory brzozy białej. Związek ten posiada szereg udowodnionych naukowo właściwości biologicznych, w tym działanie przeciwnowotworowe. Badaczka skupiła się na przeciwnowotworowym działaniu serii nowo zsyntetyzowanych pochodnych betuliny zawierających pierścień 1,2,3-triazolu, wobec komórek raka jajnika (linia SKOV-3). Wyniki tych badań zostały opublikowane w czasopiśmie *Molecules*. Wykazano, że dwie z badanych pochodnych betuliny charakteryzowały się wysoką aktywnością antyproliferacyjną, która znacznie przewyższała działanie związku wyjściowego oraz popularnego leku przeciwnowotworowego, cisplatyny.

W ostatniej pracy cyklu, Pani dr Orzechowska podjęła również badania nad zastosowaniem metod nanotechnologicznych do opracowania nowych strategii

przeciwnowotworowych. Jak wykazano, nanoemulsje mogą być stosowane jako adiuwanty nasilające odpowiedź immunologiczną przeciwko komórkom nowotworowym. W pracy opublikowanej w czasopiśmie *Vaccine*, Habilitantka wykazała, że nanoemulsja przygotowywana na bazie środków powierzchniowo czynnych, rozpuszczalnika, oleju sojowego i wody zwiększa penetrację antygeny przez błonę śluzową nosa, zwiększa wychwyt komórkowy antygenów zarówno przez komórki nabłonkowe oraz dendrytyczne oraz indukowała migrację komórek dendrytycznych obciążonych antygenem do obwodowych węzłów chłonnych. Dodatkowo, badana nanoemulsja wywoływała śmierć badanych komórek nowotworowych nosa i gardła na drodze apoptozy, nekrozy i autofagii. Wyniki te stanowią silną przesłankę do dalszych badań w kierunku opracowania nowych szczepionek przeciwnowotworowych.

W ocenie recenzenta, cykl 8 publikacji składających się osiągnięcie naukowe dr Beaty Orzechowskiej, stanowi powiązaną tematycznie całość. Badania w znacznym stopniu są nowatorskie, a uzyskane wyniki oraz opracowane modele eksperymentalne wnoszą wiele cennych informacji na temat patomechanizmów zakażeń wirusowych, nowych strategii przeciwnowotworowych związanych z zastosowaniem wirusów onkolitycznych oraz naturalnych substancji pochodzenia roślinnego. W tym kontekście, w moim przekonaniu, przedstawione osiągnięcie naukowe zasługuje na ocenę wyróżniającą, a dalsze, ambitne plany naukowe Habilitantki świadczą o silnej motywacji do dalszej pracy jako samodzielnego pracownika naukowego.

Ocena pozostałych osiągnięć naukowo-badawczych, dydaktycznych i organizacyjnych

Dorobek naukowy dr Beaty Orzechowskiej obejmuje 36 publikacji naukowych, w tym 32 posiadających Impact Factor. Ich sumaryczny Impact Factor wynosi 108,713, a punktacja MNIŚW/MEiN=1539, liczba cytowań wg bazy Scopus (dane z 27.02.2024) – 518, Index Hirscha 12. Habilitantka jest ponadto współautorem 25 doniesień zjazdowych, w tym 14 prezentowanych na konferencjach zagranicznych oraz jednego zgłoszenia patentowego.

Habilitantka bardzo aktywnie uczestniczyła w krajowych i międzynarodowych projektach badawczych. Jest obecnie kierownikiem podzadania w 3 projektach finansowanych przez NCN, NCBiR oraz Centrum Transferu Technologii Meditransfer IITD. Była również wykonawcą w 4 projektach krajowych finansowanych przez KBN, MNIŚW i Fundację „Na Ratunek Dzieciom z Chorobą Nowotworową”, a także w 4

projektach międzynarodowych finansowanych przez Narodowy Instytut Zdrowia (National Institutes of Health- NIH, USA).

Dr Orzechowska doskonaliła swoje umiejętności naukowe i zawodowe podczas stażu w Szpitalu Uniwersyteckim Kralovske Vinohrady (Oddział Genetyki Laboratoryjnej), Praga, Czechy oraz w Zakładzie Diagnostyki Laboratoryjnej 4 Wojskowego Szpitala Klinicznego z Polikliniką SP ZOZ we Wrocławiu. Na szczególną uwagę zasługuje 10-letni pobyt na Uniwersytecie Oregońskim (Oregon Health and Science University - OHSU). Na uznanie zasługuje również szeroka współpraca Habilitantki z innymi badaczami i instytucjami w ramach projektów interdyscyplinarnych, a także opracowanie szeregu analiz i ekspertyz dla otoczenia gospodarczego.

W opinii recenzenta na podkreślenie zasługuje również aktywność recenzencka dr Orzechowskiej, która w latach 2013-2021 wykonała 16 recenzji artykułów naukowych dla czasopism: Med scit monit, International Immunopharmacology, Pharmacology, FEBS Open Bio, Frontiers in Microbiology, Pharmacology, Postępy Higieny i Medycyny Doświadczalnej, Journal of Animal Science and Biotechnology, International Immunopharmacology, FEBS Open Bio, International Immunopharmacology. Habilitantka uczestniczyła również w zespołach recenzujących projekty badawcze dla NCBI i MNiSW.

Oprócz aktywności naukowo-badawczej należy wyróżnić działalność dydaktyczną, popularyzatorską i organizacyjną Habilitantki. Dr Orzechowska prowadziła wykłady i ćwiczenia z Biologii komórki, Wirusologii medycznej i Fizjologii zwierząt na Uniwersytecie Jana Długosza w Częstochowie oraz Uniwersytecie Wrocławskim. Pełniła funkcję promotora pomocniczego w jednym przewodzie doktorskim, opiekuna jednej pracy magisterskiej oraz promotora 5 licencjatów. Działalność popularyzatorska obejmowała: edukowanie medialne społeczeństwa na temat koronawirusów w okresie pandemii, przygotowanie i prowadzenie wykładu pt. „Fakty o koronawirusie”, „Diagnostyka COVID-19” dla Centrum Rozwoju Społecznego we Wrocławiu oraz szeregu prezentacji w ramach Dolnośląskiego Festiwalu Nauki. Dr Orzechowska aktywnie uczestniczyła w Organizacji Laboratorium Diagnostyki Zakażeń SARS-CoV-2 w Instytucie Immunologii i Terapii Doświadczalnej, im. Ludwika Hirszfelda PAN a także pełniła funkcję Kierownika Działu Badań i Rozwoju, w Ogólnopolskim Centrum Genetyki REX Company S.A.

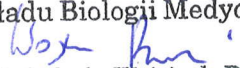
Za swoją działalność naukową i organizacyjną dr Orzechowska była wyróżniona nagrodami Dyrektora IITD PAN za opublikowanie pracy oryginalnej o najwyższym

współczynniku wpływu oraz za wkład, organizację i działalność Laboratorium Diagnostyki zakażeń SARS-CoV-2 Centrum Medycznego Instytutu Hirszfelda.

Podsumowując, na podstawie danych bibliometrycznych oraz pozostałej aktywności naukowo-badawczej, dydaktycznej i organizacyjnej, należy stwierdzić, że wartościowy dorobek naukowy Habilitantki, jej aktywność organizacyjna i dydaktyczna świadczą o dużej dojrzałości naukowej, niezbędnej do ubiegania się o stopień doktora habilitowanego.

Podsumowanie

Reasumując stwierdzam, że dr n. biol. Beata Orzechowska jest bez wątpienia ekspertem w zakresie diagnostyki wirusologicznej oraz badań przedklinicznych in vitro i in vivo, gotowym do kierowania własnym zespołem i prowadzenia samodzielnych badań naukowych. W mojej ocenie, osiągnięcie naukowe pod tytułem „Opracowanie modeli badań doświadczalnych wybranych strategii terapii przeciwnowotworowych” stanowi znaczący wkład w rozwój dyscypliny. Mając również na uwadze pozostały dorobek naukowy oraz aktywność naukową Habilitantki poza macierzystą jednostką, również w instytucjach zagranicznych, należy stwierdzić, że w zupełności zostały wypełnione wymagania ustawowe (art. 219 ust.1 pkt. 2 i 3 ustawy z dnia 20 lipca 2018 roku Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce) stawiane osobom ubiegającym się o nadanie stopnia doktora habilitowanego w dziedzinie nauk ścisłych i przyrodniczych, dyscyplina nauki biologiczne. Dlatego, przedkładam Wysokiej Radzie Naukowej Instytutu Immunologii i Terapii Doświadczalnej im. Ludwika Hirszfelda PAN wniosek o dopuszczenie dr n. biol. Beaty Orzechowskiej do dalszych etapów postępowania o nadanie stopnia naukowego doktora habilitowanego.

KIEROWNIK
Zakładu Biologii Medycznej

Prof. dr hab. Wojciech Rzeski

Lublin 27.02.2024