

Lublin, dnia 25 sierpnia 2025 r.

OPINIA

na temat **całokształtu dorobku naukowego dr n. biol. Haliny Waś**
z Wojskowego Instytutu Medycznego – Państwowy Instytut Badawczy, w Warszawie – obecnie
Narodowy Instytut Geriatrii, Reumatologii i Rehabilitacji,
**ze szczególnym uwzględnieniem osiągnięcia naukowego - cyklu 5 publikacji, stanowiącego
podstawę nadania stopnia doktora habilitowanego w dziedzinie nauk medycznych i nauk o
zdrowiu w dyscyplinie nauk medycznych, pt.:**
„Rola czynników stresowych tj. zahamowania autofagii, hipoksji i stresu oksydacyjnego w
indukcji ucieczki od starzenia komórkowego jako mechanizmu oporności komórek rakowych
na chemioterapie”

I. Podstawa prawna sporządzenia recenzji

Rada Naukowa Narodowego Instytutu Geriatrii, Reumatologii i Rehabilitacji IM. PROF. DR
HAB. MED. ELEONORY EICHER uchwałą nr 56/2025 z dnia 11 czerwca 2025r. powołała
mnie na recenzenta Komisji habilitacyjnej w postępowaniu w sprawie nadania stopnia doktora
habilitowanego w dziedzinie nauk medycznych i nauk o zdrowiu w dyscyplinie nauk
medycznych **Pani dr n. biol. Haliny Waś.**

Zgodnie z art. 219 ust. 1 ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce
(Dz.U.2021. poz. 478) stopień doktora habilitowanego nadaje się osobie, która:

- 1) posiada stopień doktora;
- 2) posiada w dorobku osiągnięcia naukowe albo artystyczne, stanowiące znaczny wkład w
rozwój określonej dyscypliny, w tym co najmniej:
 - a) 1 monografię naukową wydaną przez wydawnictwo, które w roku opublikowania monografii
w ostatecznej formie było ujęte w wykazie sporządzonym zgodnie z przepisami wydanymi na
podstawie art. 267 ust. 2 pkt 2 lit. a, lub
 - b) 1 cykl powiązanych tematycznie artykułów naukowych opublikowanych w czasopismach
naukowych lub w recenzowanych materiałach z konferencji międzynarodowych, które w roku
opublikowania artykułu w ostatecznej formie były ujęte w wykazie sporządzonym zgodnie z
przepisami wydanymi na podstawie art. 267 ust. 2 pkt 2 lit. b, lub
 - c) 1 zrealizowane oryginalne osiągnięcie projektowe, konstrukcyjne, technologiczne lub
artystyczne;

3) wykazuje się istotną aktywnością naukową albo artystyczną realizowaną w więcej niż jednej uczelni, instytucji naukowej lub instytucji kultury, w szczególności zagranicznej.

II. Podstawowe informacje o rozwoju naukowym i zawodowym Kandydatki

Pani dr Halina Waś ukończyła z wynikiem bardzo dobrym 5-cio letnie wyższe studia magisterskie na Wydziale Biologii i Nauk o Ziemi UJ, na kierunku Biologia w Zakładzie Biochemii Komórki w zakresie biologii molekularnej na podstawie pracy pt.: „Oksygenaza hemowa-1 (HO-1) zwiększa proliferację, żywotność i potencjał angiogeny mysiej linii komórek czerniaka B16(F10) *in vitro*” Na tej podstawie w dniu 17 czerwca 2004 r. uzyskała tytuł zawodowy magistra.

Na podstawie rozprawy doktorskiej pt. „Rola oksygenazy hemowej-1 w indukcji i rozwoju nowotworów skóry u myszy” otrzymała stopień naukowy doktora nauk biologicznych w zakresie biochemii w dniu 30 czerwca 2009 r, nadany uchwałą Rady Wydziału Biochemii, Biofizyki i Biotechnologii Uniwersytetu Jagiellońskiego.

Informacje o dotychczasowym zatrudnieniu w jednostkach naukowych

Kandydatka już jako studentka pracowała w latach 2002-2003 w laboratorium Zakładu Biochemii Analitycznej Wydziału Biochemii, Biofizyki i Biotechnologii Uniwersytetu Jagiellońskiego. Następnie w latach 2002 – 2011 pracowała w laboratorium Zakładu Biotechnologii Medycznej UJ jako magistrantka, doktorantka, asystentka i adiunkt. W roku 2012 rozpoczęła pracę w Polskiej Akademii Nauk, w Instytucie Biologii Doświadczalnej im. Nenckiego, w Warszawie, w Pracowni Molekularnych Podstaw Starzenia, a od 2014 do 2017 roku w Pracowni Neurobiologii Molekularnej na stanowisku adiunkta, w tym adiunkta UE (staż podoktorski BioImagine). Od 2017 roku jest zatrudniona w Wojskowym Instytucie Medycznym - Państwowy Instytut Badawczy, Laboratorium Onkologii Molekularnej i Terapii Innowacyjnych w Warszawie. W tej jednostce zajmowała stanowiska asystentki naukowej, adiunkta oraz starszej specjalistki. Kierowała również grupą badawczą.

Informacje o osiągnięciach parametrycznych

Przed uzyskaniem stopnia naukowego doktora nauk medycznych łączna wartość współczynnika wpływu Impact Factor wyniosła 50,633, a liczba punktów MEiN/MNiSW -197.

Po jego uzyskaniu łączna wartość współczynnika wpływu Impact Factor wyniosła 85,377 punktów i 1322 punkty MNiSW.

Łączny IF cyklu wynosi 27,279, PM = 450, a liczba cytowań wg bazy Scopus wynosi 182.

Sumarycznie dla całego dorobku naukowego – Kandydatka opublikowała 27 prac pełnotekstowych, o liczbie punktów MEiN/MNiSW = 1519, IF= 136,04, a liczba cytowań wg. bazy Scopus 2 429 razy, a wg. bazy Web of Science 2 286 razy, a bez autocytowań 2197.

III. Ocena osiągnięć naukowych w rozumieniu art. 219 ust. 1 pkt. 2, a zwłaszcza 2b, ustawy z dnia 20 lipca 2018r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 2021 r. poz. 478 z późn. zm.)

Ocena cyklu publikacji stanowiących podstawę do nadania stopnia doktora habilitowanego w dziedzinie nauk medycznych i nauk o zdrowiu w dyscyplinie nauk medycznych

Na cykl 5 publikacji wchodzących w skład osiągnięć naukowych stanowiących podstawę do nadania stopnia doktora habilitowanego składają się 4 prace oryginalne i 1 praca przeglądowa. Kandydatka pełniła w nich rolę pierwszego lub ostatniego autora i we wszystkich pracach była autorem korespondencyjnym. Wszystkie te prace powstały w wyniku realizacji projektów indywidulanych, których była pomysłodawcą i kierownikiem.

Kandydatka niespotykanie precyzyjnie określiła udział własny i współautorów wskazując nie tylko udział w publikacji, ale precyzyjnie definiuje rolę w najważniejszych czynnościach analitycznych. Analiza tych informacji potwierdzona oświadczeniami współautorów nie pozostawia wątpliwości co do wiodącej roli Kandydatki we wszystkich pracach cyklu, w tym w tworzeniu koncepcji, organizacji badań, pisaniu manuskryptów i czynnościach związanych z funkcją autora korespondencyjnego oraz bardzo dużego zaangażowania w czynnościach laboratoryjnych i interpretacji uzyskanych wyników. Tutaj warto podkreślić, że badania jako całość są interaktywne, co oznacza, że wyniki badań własnych skłaniały Kandydatkę do kreatywnych tez i konstruowania nowych badań będących kontynuacją wcześniej przeprowadzonych, tak aby z dociekliwością prawdziwego naukowca wyjaśnić pojawiające się pytania.

Publikacja I

Punktem wyjścia do badań były zagadnienia związane z aktywacją starzenia komórek rakowych. Indukowanie starzenia w takiej komórce sprawia, że komórka pozostaje żywa i metabolicznie aktywna ale na trwałe, jak przez długie lata sądzono, traci swoje zdolności podziałowe. W swoich tezach Kandydatka wskazywała na zupełnie inny mechanizm związany ze starzeniem – nabieranie cech „macierzystości”. Wcześniej przyjmowano, że komórki macierzyste to komórki młode. Wyniki badań własnych i innego zespołu zajmującego się innym nowotworem upoważniały do postawienia tezy, że stare komórki CRC (*ang. colorectal cancer*) mogą wykazywać cechy nowotworowych komórek macierzystych - inicjujących nowotwór. Takie założenie stało się podstawą przyznanego projektu badawczego. Dodatkowo, w ramach projektu Kandydatka opracowała nowe długoterminowe modele badawcze i sprawdziła, czy komórki CRC będą ulegały starzeniu w odpowiedzi na chemioterapeutyki stosowane w u pacjentów z rakiem jelita grubego, czyli 5-fluorouracyl (5-FU), oksaliplatynę (OXA) lub irynotekan (IRINO). Leki te stanowią składowe klinicznych schematów terapeutycznych tj. FOLFIRI i FOLFOX-u. Było to pierwsze badanie z użyciem tych leków w kontekście starzenia komórek CRC. Dodatkowo Kandydatka optymalizowała warunki hodowli komórkowej, tak, aby były one maksymalnie zbliżone do warunków klinicznych u ludzi – częstość i krotność poddawania komórek rakowych działaniu leku, 3-6-cio krotna wymiana

pożywki po okresach 72-godz. inkubacji. Jest to podejście całkowicie uzasadnione, lecz niestety rzadko stosowane, ponieważ znakomita większość badań nad komórkami rakowymi na świecie odbywa się w ramach maksymalnie 72-godzinnych schematów badawczych. Z własnego doświadczenia wiem, że niektóre linie komórek nowotworowych całkowicie zużywają glukozę i drastycznie wzrasta mleczan, nawet po 24 godzinach inkubacji, a więc dalszej inkubacji towarzyszą inne warunki niż w czasie T_0 .

We wstępnych badaniach Kandydatka w warunkach eksperymentalnych ustaliła, w jaki sposób przeprowadzić cykliczność traktowania chemioterapeutykami, jak często podawać leki, w jakich stężeniach, jak długie robić przerwy pomiędzy kolejnymi dawkami, itd. W analizowanym kontekście, wyniki badań wykazały zróżnicowaną odpowiedź komórek CRC na chemioterapeutyki. Analizy molekularne dowiodły, że komórki traktowane DOXO, 5-FU lub IRINO wykazywały cechy charakterystyczne dla SIPS, tj. zatrzymanie wzrostu, zwiększony rozmiar, wzrost ziarnistości, poliploidyzację, akumulację w fazie G2/M cyklu komórkowego, zwiększoną aktywność SA β -galaktozydazy oraz akumulację białek p21 i cykliny D1. Zastosowanie testów tworzenia sferoidów w matryzeli wykazało skuteczność OXA, 5-FU, DOXO i IRINO jako związków cytotoksycznych/cytostatycznych.

Warto podkreślić, że Kandydatka w celu rozszerzenia badań nad fenotypem sekrecyjnym (SASP) zaprojektowała membrany białkowe na 60 cytokin związanych ze wzrostem, różnicowaniem, angiogenezą, stanem zapalnym, degradacją macierzy zewnątrzkomórkowej i adhezją. W toku badań stwierdzono że DOXO, IRINO czy 5-FU spowodował zwiększone wydzielanie czynników cytostatycznych, cytokin immunomodulujących, proteaz oraz inhibitorów metaloproteinaz.

Analiza cytometryczna, western blotting i barwienia immunofluorescencyjne wykazały, że komórki stare mogą posiadać cech komórek macierzystych. Co więcej, komórki stare zyskiwały ekspresję markera epitelialnego E-kadheryny, a traciły ekspresję jej inhibitora, białka Snail.

Na podstawie tych badań Kandydatka w sposób uzasadniony sugeruje, że populacja starych komórek rakowych może składać się z kilku subpopulacji o odmiennych funkcjach. Komórki o charakterze epitelialnym mogłyby odpowiadać za lokalny wzrost kultury komórkowej, ale także pełnić rolę ochronną wobec komórek o charakterze macierzystym/mezenchymalnym.

Podsumowując, badania wykazały, że komórki raka okrężnicy ulegają starzeniu w odpowiedzi na cykliczne podawania niektórych, ale nie wszystkich chemioterapeutyków stosowanych u pacjentów onkologicznych. Wykazano także, że subpopulacja komórek raka okrężnicy traktowanych niektórymi chemioterapeutykami wykazuje specyficzny fenotyp będący połączeniem cech komórek starzejących się i macierzystych. Z tego względu wysunięto postulat, że stare/poliploidalne komórki rakowe mogą stanowić coś w rodzaju przetrwalnika/spory, są odporne na leczenie i posiadają zdolność do zainicjowania ponownego rozwoju nowotworu po zakończeniu interwencji chemioterapeutycznej. Uwalnianie przez nie czynników SASP, może mieć wpływ na całe mikrośrodowisko guza i stanowić potencjalne mechanizmy chemooporności starych komórek rakowych.

Publikacja II

Badania zaprezentowane w tym tekście są rozwinięciem zagadnienia opublikowanego w Publikacji I. Kandydatka podjęła tu próbę odkrycia postępowania mającego na celu zapobieganie podziałom starych komórek rakowych.

Inspiracją do tych badań były prace innego zespołu badawczego sugerujące, że autofagia może odgrywać rolę w segregacji materiału genetycznego w komórkach starych/poliploidalnych i odpowiadać za usuwanie wadliwych komórek potomnych. Autofagia jest to proces obejmujący kontrolowaną degradację lizosomalną makrocząsteczek i organelli w ludzkich komórkach nowotworowych. Kandydatka postawiła hipotezę, że poprzez hamowanie procesu autofagii można hamować podziały starych komórek rakowych.

Eksperymenty przeprowadzono na modelu opracowanym w poprzednich badaniach na komórkach ludzkiego raka okrężnicy HCT116, poddając je działaniu trzech cykli DOXO, po których następowała 2-tygodniowa hodowla w pożywce bez leku. W pierwszym etapie badań przeprowadzono optymalizację warunków dla uzyskania jak najbardziej homogennej populacji komórek starych. Następnie wykazano, że stare komórki rakowe podejmowały podziały w okolicach pierwszego tygodnia po zaprzestaniu podawania DOXO. Na podstawie analizy filmów wykonanych techniką time-lapse Kandydatka wykazała, w jaki sposób zachodzi podział komórki starej. Było to jedno z pierwszych doniesień w literaturze światowej pokazujące w czasie rzeczywistym amitotyczny podział starych komórek rakowych. Jednocześnie potwierdziła, że komórki HCT116 traktowane DOXO wykazują cechy komórek macierzystych.

Po opracowaniu i zweryfikowaniu modelu, przebadano wpływ hamowania autofagii za pomocą bafylomycyny A1 (BAF A1) na zdolność do podziału starych komórek rakowych. Po potwierdzeniu, że BAF A1 skutecznie hamuje autofagię, Kandydatka przeprowadziła analizę, jak hamowanie autofagii wpływa na „macierzystość” komórek starych na podstawie odsetka komórek CD24 i CD133 pozytywnych. Oprócz badań przeprowadzonych na cytometrze przepływowym, Kandydatka przeprowadziła test wzrostu sferoidów w macierzy. Na podstawie przeprowadzonych badań potwierdziła macierzysty/spoczynkowy charakter komórek starych. Ostatni etap badań opisany w tej publikacji obejmował weryfikację wyników uzyskanych *in vitro* w modelu zwierzęcym. Komórki stare HCT116 uzyskane w wyniku traktowania trzema cyklami DOXO lub trzema cyklami DOXO i BAF A1 *in vitro* były podawane podskórnie myszom o obniżonej odporności NOD/SCID. Potwierdzono, że stare komórki rakowe są w stanie tworzyć guzy u myszy. Co jednak najbardziej istotne, BAF A1 znacznie przyspieszała wzrost guzów u myszy.

Na koniec Autorka podsumowała, iż wyniki opisane w Publikacji II wskazują, że starzejące się/poliploidalne komórki nowotworowe, które pojawiają się w trakcie chemioterapii, można uznać za spoczynkowe komórki inicjujące nowotwór, które przyczyniają się do ponownego wzrostu guza po zaprzestaniu leczenia. Dane te opisują także nowe mechanizmy repopulacji starych komórek rakowych, wyzwalanych pojedynczym impulsem inhibitora autofagii, BAF A1 i zwracają uwagę na potencjalne niebezpieczeństwo łączenia chemioterapeutyków z inhibitorami autofagii w praktyce klinicznej.

Publikacja III

Celem pracy było zbadanie roli starzenia i autofagii jako mechanizmów chemooporności komórek rakowych nie tylko na poziomie *in vitro*, na innych komórkach rakowych, ale też na modelach zwierzęcych. Na poziomie *in vitro* do badań w sposób uzasadniony Kandydatka wybrała: raka płuca i raka nerki. Taki dobór typów nowotworów podyktowany był ich odmienną odpowiedzią na chemioterapie. Rak płuca całkiem dobrze odpowiada na takie leczenie, podczas gdy rak nerki wykazuje dużą chemooporność. Warto podkreślić, że doświadczenia przeprowadzono równolegle w normoksji (19%) i hipoksji (1%), ponieważ niedotlenienie jest elementem kluczowym mikrośrodowiska guzów nowotworowych. Wykazano, że podobnie jak dla linii HCT116 w linii A549 w hipoksji ucieczka od starzenia komórek rakowych zachodziła szybciej niż w warunkach normoksji. W drugiej części badań podjęto próbę zweryfikowania, jak na ucieczkę od starzenia w komórkach raka płuca będzie wpływał farmakologiczny inhibitor autofagii. Uzyskane wyniki sugerowały, że (podobnie jak w Publikacji II) dochodzi tutaj do krótkotrwałego i przejściowego zablokowania zdolności podziałowych komórek starych po pulsacyjnym zastosowaniu inhibitora autofagii. Konieczna jest zatem weryfikacja tych wyników w długoterminowej perspektywie, a także w modelach zwierzęcych.

Jak podsumowuje Autorka, badania wykazały, że komórki raka płuca ulegały starzeniu w odpowiedzi na cisplatynę, docetaksel i winorelbina. Odpowiedź na leki, a szczególnie na cisplatynę zależała jednak od warunków tlenowych, w których znajdowały się komórki rakowe. Podobną zależność stwierdzono dla komórek raka okrężnicy traktowanych irynotekanem. Ucieczka od starzenia w warunkach hipoksji zachodziła w wyniku osłabienia osi prostarzeniowej: p53-p21. Pulsacyjne zablokowanie autofagii przez hydroksychlorochinę hamowało w perspektywie krótkoterminowej ucieczkę od starzenia hipoksyjnych komórek raka płuca. Jednak konieczna jest weryfikacja tych wyników w długoterminowych modelach komórkowych i w modelach zwierzęcych. Cel pracy jest oparty na ciekawych założeniach, a ścieżka analizy bardzo interesująca.

W Autoreferacie, w opisie dla tej publikacji, trochę nieostre granice przebiegają pomiędzy opisem zakresu badań wniosku grantowego i badaniami w ramach publikacji III. Można odnieść wrażenie, że w publikacji przeprowadzono również badania na zwierzętach.

Publikacja IV

Kandydatka postawiła tezę, że wysokie stężenia hemu będą powodowały ucieczkę od starzenia komórek CRC i że będzie to zależne od właściwości prooksydacyjnych hemu. Trochę enigmatycznie opisano przesłanki do wyprowadzenia tej tezy. Kandydatka odwołała się tutaj do swoich wcześniejszych doświadczeń w temacie aktywacji HO-1, która jest elementem odpowiedzi cytoprotekcyjnej na stres oksydacyjny w nowotworach oraz starzenia komórkowego indukowanego chemioterapeutykami.

W celu weryfikacji zaprezentowanej wyżej tezy, komórki poddawane IRINO traktowano dodatkowo H₂O₂. Analiza kinetyki zmian potwierdziła, że wysokie stężenia H₂O₂ w krótkiej perspektywie wprowadzają komórki CRC w stan głębszego starzenia, ale w dłuższej

perspektywie nasilają ucieczkę od starzenia. Dlatego w kolejnym etapie badań Kandydatka skupiła się na sprawdzeniu roli poszczególnych enzymów antyoksydacyjnych w starzeniu komórek CRC i zależnej od hemu ucieczce od starzenia; w następnym, ostatnim etapie badań opisanych w tej publikacji skupiono się na zbadaniu, czy warunki hipoksji, które są naturalne dla mikrośrodowiska nowotworów *in vivo*, zmodyfikują w jakiś sposób odpowiedź komórek HCT116 na IRINO i heminę.

Badania wykazały, że wysokie stężenie hemu w połączeniu ze zwiększoną aktywnością enzymów antyoksydacyjnych, zwłaszcza HO-1, prowadziło do ucieczki przed starzeniem się komórek raka jelita grubego. Na tej podstawie wysnuto tezę, że to z kolei może prowadzić do miejscowej wznowy po leczeniu chemioterapeutycznym, a także nasilenia zdolności komórek rakowych do przerzutów. Wskazano, że odkrycie może mieć szczególnie istotne znaczenie w sytuacji klinicznej, gdzie rozwojowi nowotworu towarzyszą wylewy krwi jak ma to miejsce np. w rozwoju raków przewodu pokarmowego, przy powstawaniu siniaków, a także w profilaktyce dietetycznej nowotworów, związanej z ograniczaniem spożycia czerwonego mięsa.

Wnioski wyciągnięte z wyników badań są poprawne, a interpretacja ich znaczenia w przyszłości wydaje się wysoce prawdopodobna i inspirująca.

Publikacja V

Ostatnia praca cyklu to praca przeglądowo/poglądowa w czasopiśmie o bardzo wysokim IF=14,5. Wiodącym tematem publikacji jest rola ploidii – nieprawidłowej liczby chromosomów w inicjacji nowotworów oraz chemooproności.

W pierwszej części pracy opisano mechanizmy molekularne prowadzące do powstania komórki z wieloma jądrami lub z jednym olbrzymim jądrem zawierającym zwielokrotniony materiał genetyczny (poliploidalne gigantyczne komórki nowotworowe; PGCC). Mechanizmami tymi są mechanizmy endoreplikacji, fuzja komórkowa oraz kanibalizm komórkowy.

W drugiej części pracy skupiono się na czynnikach, które mogą wywołać poliploidyzację, a więc szerokie spektrum czynników chemicznych oraz promieniowanie jonizujące.

W ostatniej części publikacji przedstawiono opis czynników, nie kojarzonych jeszcze powszechnie z poliploidią w nowotworach - w tym czynniki środowiskowe i epigenetyczne. W publikacji tej zwrócono uwagę na zdolność komórek poliploidowych do wytworzenia komórek potomnych poprzez odwrócenie stanu poliploidalnego, czyli depoliploidyzację. Odbywa się to na zasadzie amitotycznego podziału, w wyniku którego generowanych jest wiele komórek potomnych. Powstające wtedy komórki potomne mogą odpowiadać za wznowę choroby nowotworowej po chemio-, radioterapii, a także po innych interwencjach terapeutycznych, które nakładają na komórki rakowe ekstremalny stres i presję selekcyjną. Te komórki potomne charakteryzują się często większą agresywnością i złośliwością niż komórki wyjściowe.

Podsumowanie badań opublikowanych jako cykl artykułów

W odniesieniu do wszystkich prac cyklu można stwierdzić, że każdy krok analityczny był rzetelnie weryfikowany, a testy optymalizowano pod wieloma względami, co bardzo uwiarygadnia uzyskanie końcowych rezultatów. Kandydatka jest racjonalnie krytyczna do każdego etapu badań, użytych testów i markerów. Na przykład wskazała, i merytorycznie wyjaśniła, że pomiar aktywności SA- β -gal nie jest dobrym markerem starzenia. Uwagze Kandydatki nie uchodzą nawet pozornie mniej znaczące efekty komórkowe. Potrafi przedstawić propozycję interpretacji tych zjawisk opartą na mocnych fundamentach naukowych.

W oparciu o zastosowanie zoptymalizowanych metod pozwalających na uzyskanie wiarygodnych z punktu widzenia analitycznego metod, Autorka w sposób bardzo rzetelny, logiczny i merytoryczny interpretowała uzyskane wyniki, następnie stawiała śmiało, ale ze wszelkich miar uzasadnione tezy, kreatywnie konstruowała nowe plany badawcze celem potwierdzenia tych tez i w ten sposób uzyskiwała kolejne odkrycia, poszerzając horyzonty poznawcze światowej wiedzy na temat biologii nowotworów. Badania opublikowane w kolejnych publikacjach ściśle wynikają z rezultatów badań poprzedzających. Jest tu zatem przedstawiony cały proces myślowy, ukazujący olbrzymią rzetelność, pracowitość, kreatywność w stawianiu tez i planowaniu kolejnych badań. Obecnie dość często obserwujemy, że wyniki badań składające się na cykl habilitacyjny, mimo, że „popadają” pod tematykę ujętą wspólnym tytułem stanowią niejako odrębne zadania badawcze. W tym przypadku Autorka przedstawiła badania stanowiące kontinuum potwierdzając tym samym swoją pewność, że wyniki badań są wiarygodne, a to co robi, jest ważne i nowatorskie.

Bardzo doceniam doniosłość badań podstawowych realizowanych na wysokim poziomie merytorycznym nawet wtedy gdy nie można odpowiedzieć na pytanie – czy w przyszłości będzie można je wykorzystać w praktyce. Tym bardziej doceniam badania teoretyczne Kandydatki nad poznaniem nowych mechanizmów chemooporności nowotworów, ponieważ bardzo wyraźne mogą być korzyści z badań aplikacyjnych planowanych w przyszłości w oparciu o osiągnięcia Kandydatki.

Mimo, że w ostatnich czasach słowo „pasja” zostało zdewaluowane (nie wypada nie mieć pasji), myślę, że w tym przypadku można śmiało powiedzieć, że nauka jest pasją Kandydatki – pasją w swym wcześniejszym znaczeniu – w którym staje się treścią życia i źródłem satysfakcji i zadowolenia.

Wyjątkowy jest tu opis wykonywanych badań i aktywności naukowej, tak aby oddać rzetelnie rolę poszczególnych współpracowników w ich powstawaniu. Najczęściej w autoreferatach czytamy „zrobiłem/am, wykazałem/am” mimo, że brał w tym udział zespół wykonawców. Świadczy to o dużej uczciwości Kandydatki oraz lojalności w stosunku do swoich byłych i obecnych współpracowników.

Podsumowując, całkowicie zgadzam się z Kandydatką, że cykl prac przedstawiony jako osiągnięcie habilitacyjne stanowi oryginalny wkład do nauki w zakresie rozpoznania ucieczki od starzenia jako jednego z mechanizmów chemooporności komórek rakowych i może

stanowić istotny wkład zarówno w dziedzinie nauk ścisłych dotyczących biologii nowotworów, jak i w dziedzinie nauk medycznych, przekładając się na bardziej skuteczną diagnostykę i terapię nowotworów.

IV. Inne osiągnięcia naukowe

W rozdziale 4 Autoreferatu poświęconemu osiągnięciom naukowym (a więc, zgodnie z ustawą powinno być przynajmniej dwa osiągnięcia) Kandydatka przedstawiła jedno osiągnięcie, którym jest cykl publikacji powiązanych tematycznie. Informacje na temat pozostałych osiągnięć zostały jednak podane w kolejnym (5) rozdziale Autoreferatu, poświęconym istotnym aktywnościom naukowym realizowanym w więcej niż jednej uczelni/instytucji naukowej. W rozdziale tym, w opisie pozostałych osiągnięć, poza cyklem, Kandydatka za mało uwagi poświęca osiągnięciom merytorycznym, skupiając się na opisie przesłanek uzasadniających podjęcie badań. Możliwa jest jednak weryfikacja osiągnięć we wskazanych przez Autorkę publikacjach tych badań.

Kandydatka od samego początku pracy naukowej zajmowała się tematyką związaną z biologią nowotworów. Kierunki badań, jak już wspomniałem, były jednak tak dobrane aby rezultaty można było szybko wykorzystać w warunkach klinicznych. Pierwsze osiągnięcia naukowe można już odnotować podczas przygotowywania pracy magisterskiej. Wykazała wtedy, że HO-1 zwiększa właściwości proliferacyjne, antyoksydacyjne i proangiogenne komórek mysiego czerniaka B16(F10) *in vitro*. Były to pionierskie osiągnięcia, a temat ten jest rozwijany po dzień dzisiejszy.

Rola HO-1 w czerniaku oraz innych nowotworach skóry stanowiła tematykę rozprawy doktorskiej Kandydatki. Badania koncentrowały się między innymi na roli HO-1 w komórkach podścieliska na rozwój czerniaka u myszy z wykorzystaniem modelu myszy z wyłączonym genem HO-1. Inne badania, poza doktoratem, dotyczyły roli HO-1 w terapii fotodynamicznej, w procesach angiogenezy.

Po uzyskaniu stopnia naukowego doktora, wiodącym tematem badań była rola HO-1, hipoksji i hormonów płci w mechanizmie odróżnicowania komórek czerniaka. Wykazano że HO-1 i hipoksja aktywowały właściwości macierzyste komórek czerniaka, a estradiol je hamował. W opublikowanych pracach oryginalnych z tego okresu w 3 na 12 prac była pierwszym autorem w czasopismach z IF >5-6. Jest również współautorką w 5 pracach przeglądowych, z których w 3 jest pierwszym autorem, a IF czasopism tych prac zawiera się w przedziale >3-6.

V. Ocena aktywności naukowej, o której mowa w art. 219 ust. 1 pkt 3 ustawy Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce

Kolejnym – ostatnim warunkiem nadania stopnia doktora habilitowanego jest wykazywanie się istotną aktywnością naukową realizowaną w więcej niż jednej uczelni lub instytucji naukowej, w szczególności zagranicznej. Temu zagadnieniu poświęcony jest rozdział 5. Autoreferatu. W mojej ocenie nie jest on zredagowany poprawnie. Na początku, w głównej mierze, Kandydatka opisuje swoje zainteresowania naukowe i tematykę projektów badawczych, w

których brała udział, bez wskazania z jakimi jednostkami prowadziła współpracę. Niepotrzebnie w tym opisie pojawiają się podrozdziały takie jak: „Udział w projektach naukowych przed uzyskaniem stopnia naukowego doktora.”, czy: „Prace naukowe opublikowane przed uzyskaniem stopnia naukowego doktora” itp. , w których Kandydatka nie wskazuje istotnej aktywności naukowej w innych uczelniach/instytucjach naukowych.

Wymieniony przez Kandydatkę temat, który dotyczył współpracy w zakresie wpływu 15d-PGJ₂ na właściwości proangiogenne i zapalne komórek śródbłónka, mimo, że opublikowany w dwóch prestiżowych czasopismach, był realizowany w Uniwersytecie Jagiellońskim, a więc, ówczesnej jednostce macierzystej Kandydatki, co nie spełnia wymagania ustawowego dla tego kryterium. Podobnie, w pierwszym akapicie na stronie 36 Autoreferatu trudno rozstrzygnąć, czy przeprowadzone badania do opublikowanych artykułów były realizowane w aktualnej wówczas jednostce macierzystej, czy jednostce, w której Kandydatka pracowała wcześniej. W swojej ocenie uznałem, że tego kryterium nie spełniają również badania uwieńczone pracą oryginalną dotyczącą analizy NGS starzenia komórkowego i efektów hamowania autofagii w starych komórkach rakowych *in vitro* przeprowadzone we współpracy z Zespołem dra Sławomira Gołdy z firmy Intelliseq z Krakowa, ponieważ firma, w rozumieniu ustawowym, nie jest instytucją naukową, nawet jeśli posiada swój dział R&D.

Z bardzo obszernego opisu można jednak uszeregować imponujący wykaz aktywności naukowej realizowanej w więcej niż jednej uczelni lub instytucji naukowej, w tym zagranicznej:

1. Wykonywanie barwień immunohistochemicznych materiału mrożonego w laboratorium prof. Anny Ratajskiej, Zakład Anatomii Patologicznej Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego (*Grudzień 2004*), którego rezultatem była wspólna publikacja: *Waś et al. Am J Pathol. 2006*.
2. Wykonywanie barwień materiału zatopionego w parafinie w tym samym Laboratorium (*Grudzień 2006*), co zostało wykorzystane we wspólnej publikacji z prof. Anną Ratajską: *Waś et al. Free Radic Biol Med. 2011*.
3. Realizacja tematu dotyczącego roli HO-1 w terapii fotodynamicznej nowotworów realizowanego we współpracy z Zespołem prof. Dominiki Nowis i prof. Jakuba Gołąba z Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego. Zagadnieniem HO-1 Kandydatka zajmowała się od samego początku swojej kariery naukowej, a więc można uznać, że aktywność Kandydatki w tym projekcie była istotna. Udział w tej współpracy został potwierdzony dwoma publikacjami - *Nowis et al. Oncogene 2006*, *Nowis et al. BMC. Cancer 2008*.
4. Badania nad związkiem między SDF-1, a HO-1 w mechanizmach angiogenezy, które były przeprowadzone we współpracy z Zespołem prof. Anupama Agarwala z University of Alabama, Birmingham, USA, potwierdzone publikacją: *Deshane et al. J Exp Med. 2007*.
5. Badania nad HO-1 jako białka wpływającego na odróżnicowanie komórek czerniaka, a także na ich właściwości proangiogenne, odgrywające rolę w procesie mimikry naczyniowej - współpraca z UJ (w tym czasie UJ był jednostką zewnętrzną dla Kandydatki). Rezultatem wspólnych badań była publikacja: *Kusienicka et al. Int J Mol Sci. 2022*.

6. Kandydatka odbyła w 2013 r. 2-miesięczny staż w laboratorium prof. Jiri Bartka i prof. Zdenka Hodnego, w Zakładzie Integralności Genomu, Instytutu Genetyki Molekularnej Akademii Nauk Republiki Czeskiej. Rezultatem tej współpracy były trzy publikacje: *Postepy Biochem.* 2014, *Neoplasia.* 2015, *Forum Akademickie.* 2015.
7. Współpraca z prof. Dante Rotili i prof. Antonello Mai z Sapienza University of Roma, Italy, którzy opracowali nowe inhibitory HDAC (*ang. histone deacetylase*). Owocem tej współpracy była publikacja *Waś et al. Clin Epigenetics.* 2019.
8. Praca oryginalna dotycząca roli starzenia komórkowego u pacjentów z gruczolakorakiem płuca poddawanych chemioterapii, przeprowadzona we współpracy z Zespołem dr Tomasza Gila z Krakowskiego Szpitala Specjalistycznego im. Jana Pawła II: *Maciejewska, Kobza, ... Waś. w recenzji*;
9. Praca oryginalna dotycząca opracowania podawania chemioterapii w modelu mysim raka nerki z charakterystyką efektów ubocznych, we współpracy z Zespołem prof. Urszuli Wojdy z Instytutu Biologii Doświadczalnej im. M. Nenckiego w Warszawie: *Mietelska-Porowska, ..., Waś. w przygotowaniu.*
10. Współpraca z prof. Davidem Gewirtzem z Virginia Commonwealth University, Richmond, USA w 2017 r. na temat starzenia i autofagii. W ramach tej współpracy w 2018 r. Kandydatka uzyskała stypendium Fundacji Kościuszkowskiej na pobyt naukowy w laboratorium prof. Gewirtza.
11. Od 2023 r. Kandydatka współpracuje także z jednym z byłych postdocków z Zespołu prof. Gewirtza, dr Tareqiem Salehem z Hashemite University, Zarqa, Jordan oraz od 2024 r. z dr Keefe T Chan z Peter MacCallum Cancer Centre, Melbourne, Australia. Wspólnie przeprowadza redakcję numerów specjalnych we *Frontiers in Cell and Development Biology*.
12. Prace powstałe w wyniku współpracy, rozpoczętej w 2018 r. w zakresie efektów ubocznych chemioterapii ze szczególnym naciskiem na układ nerwowy, z prof. Raquel Abalo z University Rey Juan Carlos, Hiszpania i prof. Kulmirą Nurgali z Victoria University, Melbourne, Australia. Rezultatem tej współpracy był publikacje: *Waś et al. Front Pharmacol.* 2022, *Nurgali et al. Front Pharmacol.* 2022, *Olszewska, Granica et al. Nova Science Publisher,* 2022;
13. Złożenie w 2023 r. wniosku w międzynarodowym konkursie „Grand Cancer Challenges” organizowanym przez National Health Institute USA i Cancer Research UK. Projekt dotyczył neurotoksyczności u pacjentów onkologicznych poddawanych chemioterapii. Konsorcjum składało się z 11 wybitnych zespołów badawczych z całego świata, m.in: Hiszpanii, UK, USA, Australia, Irlandii i Polski, a wartość całkowita projektu wynosiła 25 mln dolarów.
14. Współpraca z ośrodkami klinicznymi w zakresie wpływu hipoksji na biologię nowotworów i terapie przeciwnowotworowe. Część wyników Kandydatka opublikowała jako prace eksperymentalne i przeglądowe: *Klemba et al. Int J Mol Sci.* 2020, *Piasecki et al. Sci Rep.* 2021, *Borkowska, Olszewska et al. Cancers,* 2022, *Olszewska et al. Front Oncol.* 2022, *Olszewska, Granica et al. Nova Science Publisher,* 2022, *Synowiec et al. Int J Mol Sci.* 2023, *Skrzeszewski et al. Biochem Pharmacol.* 2024.

Podsumowując, Kandydatka wykazała się istotną aktywnością naukową realizowaną w więcej niż jednej uczelni oraz instytucji naukowej, w szczególności zagranicznej. Tym samym spełnia kryteria wskazane w art. 219 ust. 1 pkt 3 ustawy Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce.

VI. Wykaz pozostałej aktywności naukowej

Publikacje oraz wystąpienia zjazdowe

Przed uzyskaniem stopnia naukowego doktora Kandydatka opublikowała 8 prac oryginalnych, 2 prace przeglądowe, 1 edytorial i 2 prace popularnonaukowe, a także wzięła udział w 20 konferencjach naukowych, na których zaprezentowała doniesienia naukowe w formie 10 wystąpień ustnych oraz 10 wystąpień plakatowych.

Po uzyskaniu stopnia naukowego doktora, oprócz prowadzenia badań składających się finalnie na cykl publikacji Kandydatka badała wpływ mechanizmów epigenetycznych na właściwości macierzyste komórek glejaka z użyciem nowo zsyntetyzowanych inhibitorów HDAC. Od wielu lat prowadzi badania nad starzeniem komórkowym oraz autofagią jako mechanizmami chemooporności, a także bada efekty uboczne chemioterapii ze szczególnym naciskiem na zagadnienia związane z układem nerwowym. Istotnym wątkiem obecnie prowadzonych badań jest wpływ hipoksji na biologię nowotworów i terapię przeciwnowotworowe. Rezultaty tych badań powstały we współpracy krajowej i międzynarodowej i zostały opublikowane w prestiżowych czasopismach. W tym okresie poza pracami stanowiącymi podstawę do ubiegania się o stopień doktora habilitowanego, opublikowała 12 prac oryginalnych (w tym 3 jako pierwszy autor), 5 artykułów przeglądowych (w tym 3 jako pierwszy autor), 2 rozdziały w monografiach naukowych, 1 edytorial oraz 1 artykuł popularnonaukowy, a także wzięła udział w 28 konferencjach naukowych, gdzie zaprezentowała 19 wystąpień ustnych i 9 wystąpień plakatowych.

Wykaz osiągnięć projektowych

Przed uzyskaniem stopnia doktora była wykonawcą w 4 projektach MNiSW. Natomiast po uzyskaniu doktoratu była kierownikiem w 5 grantach (FNP, MNiSW, NCN), a w trzech wykonawcą. Ponadto uzyskała finansowanie MNiSW w kwocie ok. 360 000 PLN na projekt zakładający, że HO-1 wpływa na odróżnicowanie komórek czerniaka, a także na ich właściwości proangiogenne.

Powyższe osiągnięcia świadczą o dużej aktywności naukowej, zdolności do szerokiej współpracy oraz samodzielności w zdobywaniu funduszy na badania.

Wykaz staży

Kandydatka odbyła dwuletni staż podoktorski w Instytucie Biologii Doświadczalnej im. M. Nenckiego w Warszawie (2012-2013) i dwa krótkie staże zagraniczne – w Zakładzie

Integralności Genomu, Instytut Genetyki Molekularnej Akademii Nauk Republiki Czeskiej (2013) oraz w Narodowym Centrum Badań Naukowych (CNRS), Orlean, Francja (2018).

Inne aktywności

Kandydatka aktywnie uczestniczy w zespołach redakcyjnych w renomowanych czasopismach tematycznych.

Od 2018 roku wykazuje aktywność ekspercką – recenzuje granty NCN, a od 2022 roku granty NCBiR. Od 2024 pracuje w grupie ekspertów ds. oceny wniosków o granty badawcze: staże podoktorskie w ramach programu Marii Skłodowskiej-Curie, Komisja Europejska, Bruksela.

W obszarze dydaktyki – w latach 2005-2011 - współprowadziła zajęcia praktyczne z zakresu „Molecular mechanisms of angiogenesis” dla studentów polskich i zagranicznych na Uniwersytecie Jagiellońskim, a także pełniła funkcję opiekuna naukowego w ok. 30 pracach licencjackich, magisterskich i doktoranckich oraz opiekuna praktyk. W latach 2012 – 2017 w Instytucie Biologii Doświadczalnej im. Nenckiego PAN w Warszawie kontynuowała aktywność dydaktyczną w podjętej na UJ tematyce. W tej jednostce była opiekunem naukowym w dwóch doktoratach i dla kilku studentów/praktykantów. Prowadziła również zajęcia dla studentów Uniwersytetu Warszawskiego oraz zajęcia praktyczne z zakresu „Premature senescence of cancer cells” dla doktorantów Letniej Szkoły Podyplomowej Szkoły Medycyny Molekularnej. Od 2017 roku w Wojskowym Instytucie Medycznym pełniła/pełni funkcję promotora pomocniczego w trzech dysertacjach doktorskich, w tym dwóch zakończonych obroną rozprawy doktorskiej.

Kandydatka wykazuje również aktywność organizacyjną związaną z wydarzeniami naukowymi. Jest współorganizatorem francusko-polskich spotkań naukowych, współorganizatorem warsztatów naukowych Towarzystwa Fizjologicznego, współorganizatorem konferencji międzynarodowej oraz szkoły letniej.

Kandydatka jest bardzo aktywna w obszarze popularyzatorskim. Jest laureatką licznych stypendiów i nagród otrzymywanych zarówno przed jak i po uzyskaniu stopnia naukowego doktora. Doksztalała się na licznych szkoleniach tematycznych (15), w tym w Niemczech (dwukrotnie), Francji, Holandii.

VII. Konkluzja

Pani dr n. biol. Halina Waś spełnia wszystkie formalne kryteria ustawowe wymagane do uzyskania stopnia naukowego doktora habilitowanego. Posiada wybitne osiągnięcia naukowe w tematyce biologii nowotworów i chomooprności oraz wykazuje się niezwykle istotną aktywnością naukową realizowaną w więcej niż jednej uczelni lub instytucjach naukowych, również zagranicznych. Wykazuje również bardzo dużą aktywność w innych obszarach naukowy, dydaktycznych i organizacyjnych.

Podejmowana przez Kandydatkę tematyka badań jest bardzo ważna i aktualna. Mimo, że jest to obszar badań podstawowych, to rezultaty tych badań w krótkiej perspektywie mogą otwierać nowe możliwości dla badań aplikacyjnych.

W części Autoreferatu poświęconej monotematycznemu cyklowi publikacji Kandydatka zawarła wszystko co jest potrzebne recenzentowi do oceny Kandydata na stanowisko samodzielnego pracownika nauki – a więc z jakich przesłanek merytorycznych wywodzi się cel poszczególnych prac, czy dobór metod badawczych pozwala na realizację postawionego celu; czy właściwie interpretuje wyniki badań i czy potrafi kreatywnie zaplanować kolejne badania aby rozwiązać pojawiający się problem i wreszcie, czy wyciągane wnioski są prawidłowe, oparte na wiarygodnych dowodach. Analiza Autoreferatu wskazuje, że Kandydatka doskonale sobie radzi ze wszystkimi powyższymi wymaganiami oraz potrafi budować zespoły badawcze co w pełni uzasadnia uzyskanie stopnia naukowego doktora habilitowanego uprawniającego do pełnienia funkcji samodzielnego pracownika naukowego.

Na podstawie oceny merytorycznej osiągnięć naukowych publikowanych w renomowanych czasopismach naukowych oraz współpracy w ramach wspólnych grantów z wieloma jednostkami naukowymi na świecie można stwierdzić, iż Kandydatka posiada bardzo duży potencjał naukowy i już uzyskała rozpoznawalność na poziomie światowym.

Biorąc powyższe pod uwagę wyrażam opinię, że dr n. biol. Halina Waś spełnia kryteria określone w art. 219 ustawy Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce, stawiane w postępowaniach habilitacyjnych. Wnoszę zatem do Rady Naukowej Narodowego Instytutu Geriatrii, Reumatologii i Rehabilitacji IM. PROF. DR HAB. MED. ELEONORY EICHER o dopuszczenie dr n. biol. Haliny Waś do dalszych etapów przewodu habilitacyjnego w dziedzinie nauk medycznych i nauk o zdrowiu w dyscyplinie nauki medyczne.