



wpl.  
dnia 21-09-2023

L. dz. RN-BM/ 1648

Recenzja w postępowaniu habilitacyjnym dorobku naukowego, dydaktycznego i organizacyjnego oraz osiągnięcia naukowego pt.

**„Wykorzystanie szczypiec optycznych do oceny wpływu wybranych czynników mikrośrodowiska oraz leków przeciwnowotworowych na adhezję chłoniaków nie-Hodgkina”**

Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu  
RADA DYSCYPLINY NAUKI MEDYCZNEJ

Przewodniczący  
prof. dr hab. Agnieszka Halon

27-09-2023

Pani dr n. med. Kamili Anny Duś-Szachniewicz z Zakładu Patologii Ogólnej i Doświadczalnej Katedry Patologii Klinicznej i Doświadczalnej Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu.

### 1. Dane biograficzne i osiągnięcia zawodowe

Pani dr n. med. Kamila Anna Duś-Szachniewicz uzyskała licencjat z biologii i chemii na Wydziale Nauk Przyrodniczych Uniwersytetu Wrocławskiego w 2007 roku, a dwa lata później uzyskała tytuł magistra biologii, specjalność genetyka i mikrobiologia na Wydziale Nauk Przyrodniczych Uniwersytetu Wrocławskiego. W 2010 roku rozpoczęła studia doktoranckie na Wydziale Lekarskim w Uniwersytecie Medycznym we Wrocławiu, które ukończyła w 2015 roku. Stopień doktora nauk medycznych uzyskała w 2016 roku po obronie pracy doktorskiej: *Analiza proteomu gruczolaka i gruczolakoraka jelita grubego metodą spektrometrii mas z wykorzystaniem archiwalnych tkanek zatopionych w parafinie*. Promotorem w przewodzie doktorskim był prof. dr hab. Piotr Zieliński. W latach 2011-2012 Kandydatka odbyła staż naukowy w ramach stypendium doktorskiego w Instytucie Biochemii Maxa Plancka w Martinsried w Niemczech.

Od 2016 roku do chwili obecnej jest zatrudniona na stanowisku adiunkta w Zakładzie Patologii Ogólnej Doświadczalnej Katedry Patologii Klinicznej i Doświadczalnej Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu.

### 2. Ocena osiągnięcia naukowego

Przedstawionym do oceny osiągnięciem naukowym jest cykl pięciu powiązanych tematycznie publikacji naukowych. Publikacje powstały w latach 2018-2022, wszystkie z nich to prace oryginalne. Rozprawa przedstawiona jest jako osiągnięcie naukowe pt. **Wykorzystanie szczypiec optycznych do oceny wpływu wybranych czynników mikrośrodowiska oraz leków przeciwnowotworowych na adhezję chłoniaków nie-Hodgkina.**

Łączna punktacja pięciu prac wynosi 520 punktów MNiSW, a sumaryczny Impact Factor: 26, 767. Wszystkie prace zostały opublikowane w czasopiśmie recenzowanym, ale płatnym. We

wszystkich pracach Kandydatka jest pierwszym oraz korespondencyjnym autorem. W dwóch pracach Kandydatka swój udział w realizacji szacuje na 80%, a w trzech na 90%.

Według Habilitantki celem badań przedstawionych jako cykl powiązanych tematycznie publikacji było:

- opracowanie modeli komórkowych umożliwiających badanie oddziaływań między komórkami chłoniaków nie-Hodgkina z komórek B oraz komórkami zrębu szpiku kostnego oraz za pomocą innowacyjnej metody szczypiec optycznych w czasie rzeczywistym,
- różnicowanie komórek chłoniaków nie-Hodgkina na podstawie ich właściwości adhezyjnych,
- ocena wpływu wybranych warunków mikrośrodowiska oraz leków przeciwnowotworowych na adhezję komórek chłoniaków nie-Hodgkina za pomocą szczypiec optycznych.

Pierwszy cel Habilitantka osiągnęła w pracy nr 1 opublikowanej w International Journal of Molecular Sciences przedstawiając metodologię badania właściwości adhezyjnych komórek chłoniaków nie-Hodgkina z komórki B w czasie rzeczywistym w układzie szczypiec optycznych. Działanie szczypiec optycznych polega na tym, że odpowiednio uformowaną wiązką światła można złapać materię, przytrzymać ją w tzw. pułapce optycznej a także przemieścić. Twórcą szczypiec optycznych używanych przez Habilitantkę jest dr hab. inż. **Sławomir Drobczyński**, drugi autor omawianej pracy. Habilitantka podaje, że kluczowym dla realizacji badania ze względu na specyfikę preparatu komórkowego (komórki chłoniakowe) i nowy sposób pomiaru sił adhezji była rozbudowa istniejącego układu oraz modyfikację oprogramowania sterującego pracą całego systemu, co szczegółowo opisała w publikacji. Nie podaje jednak kto dokonał rozbudowy istniejącego układu oraz modyfikacji oprogramowania sterującego pracą systemu, choć można wnosić z 80% udziału Habilitantki w stworzeniu pracy, że dokonała tego sama Habilitantka. Właściwości adhezyjne komórek chłoniakowych Habilitantka oceniała na podstawie czasu niezbędnego do utworzenia przez pojedynczą komórkę chłoniaka stabilnej kokultury z komórką zrębu szpiku kostnego. W pracy Habilitantka przetestowała adhezję 479 komórek chłoniaków należących do 6 linii komórkowych. Wykazała, że komórki chłoniaków nie-Hodgkina wykazują heterogenne właściwości adhezyjne charakterystyczne dla danej linii komórkowej. W dalszej części pracy Habilitanta oceniała wpływ stężenia tlenu na adhezję komórek chłoniakowych do komórek zrębu w zaprojektowanej do tego celu komorze stanowiącej wyposażenie układu szczypiec optycznych (zgłoszenie patentowe współtworzone przez Habilitantkę nr. P.424002 pn.). W pracy Habilitantka dowiodła, że komórki chłoniakowe w warunkach fizjoksji tworzą stabilne kokultury z komórkami zrębu szpiku kostnego od 1.7 do 5.1 razy wolniej niż w standardowych warunkach tlenowych. Co istotne, zmiany w adhezji obserwowane w warunkach fizjoksji były odwracalne po inkubacji komórek w standardowych warunkach tlenowych. Podsumowując Habilitantka wykazała wpływ hipoksji na spowolnienie procesu adhezji komórek nowotworowych do komórek zrębu. Dodatkowo wykazała, że szczypce optyczne mogą służyć do badania właściwości adhezyjnych komórek chłoniaków. W kolejnej

pracy opublikowanej w Scientific Reports w 2019 roku Habilitantka starała się zweryfikować hipotezę, że można za pomocą szczypiec optycznych odróżnić komórki chłoniakowe od prawidłowych limfocytów. Badanie przeprowadzono na komórkach chłoniakowych pozyskanych od chorych w drodze biopsji cienkoigłowej oraz śródoperacyjnie. Komórki chłoniakowe CD20+ izolowano przy użyciu magnetycznej selekcji. Komórki kontrolne pochodziły od chorych ze zdiagnozowanym procesem zapalnym węzłów chłonnych. W opisie protokołu badania brakuje informacji, czy komórki pobierano po ustaleniu rozpoznania (chłoniak vs stan zapalny) czy w trakcie diagnostyki, kiedy jeszcze nie była znana diagnoza. Sądzę, że jest to ważny szczegół z punktu widzenia metodologicznego ponieważ w przypadku braku jednoznacznej diagnozy badanie byłoby wykonywane w sposób zaślepiony. Habilitantka ustaliła, że czas niezbędny do stworzenia połączenia przez komórki nowotworowe z komórkami zrębu jest niemal 10 krotnie dłuższy niż czas w jakim taki te połączenie tworzą nienowotworowe komórki aktywowane przez stan zapalny. Brakuje mi jednak walidacji uzyskanych wyników na nowym materiale zaślepionym z punktu widzenia rozpoznania. Uzyskane przez Habilitantkę wyniki potwierdzają od dawna znany fakt, co podkreśla sama Habilitantka, że komórki nowotworowe w tym komórki chłoniakowe mają zmniejszone zdolności adhezyjne. Na podstawie uzyskanych wyników Habilitantka dowodzi, że opracowana metoda umożliwia odróżnienie komórek chłoniakowych od komórek prawidłowych. Było to również podstawą zgłoszenia patentowego. Z wnioskiem Habilitantki można polemizować. Po pierwsze dlatego, że kontrolne komórki były wprawdzie komórkami nienowotworowymi ale nie były komórkami nieaktywowanymi. Po drugie nikt przy zdrowych zmysłach nie podejmie się na podstawie oceny czasu adhezji rozpoznawać nowotworu pochodzenia limfocytowego.

W omawianej pracy w dyskusji Habilitantka podkreśla, że niezbędny jest głębszy wgląd w mechanizmy prowadzące do obniżonej adhezji komórek chłoniakowych do komórek zrębu. I właśnie to było celem trzeciej pracy wchodzącej w skład rozprawy habilitacyjnej. W pracy opublikowanej w Cancers w 2021 roku Habilitantka podjęła się próby identyfikacji białek odpowiedzialnych za zaburzenia adhezji technikami proteomicznymi. Do badania wykorzystano komórki pobrane drogą biopsji cienkoigłowej oraz komórki z biopłatów pobranych drogą operacyjną. Ponownie za kontrolę Habilitantka przyjęła komórki pochodzące z biopsji zmian, które okazały się zmianami nienowotworowymi. Jak poprzednio w materiałach i metodach autorka nie opisała sposobu pozyskania zmian od osób, u których nie rozpoznano chłoniaka. Habilitantka izolowała zdrowe i patologiczne limfocyty za pomocą kulek magnetycznych powleczonych przeciwciałem CD19. Antygen CD19 występuje zarówno na limfocytach nowotworowych, jak i nienowotworowych. Pojawia się więc pytanie w jaki sposób Habilitantka odróżniała komórki nowotworowe od nienowotworowych. Peptydy z pobranych komórek Habilitantka uzyskała stosując współtworzony przez siebie protokół. Sama zaś analiza białek została przeprowadzona w Instytucie Biochemii Maxa Plancka. Listę zidentyfikowanych białek dołączono jako

suplement do publikacji. Na podstawie przedstawionych danych można wnosić, że Habilitantka wyizolowała wszystkie białka jakie się dało zidentyfikować. Udało się jej zidentyfikować aż 579 białek o co najmniej dwukrotnie podwyższonym stężeniu oraz 607 próbek o co najmniej dwukrotnie obniżonym stężeniu. Sześć białek miało 20 krotnie podwyższone stężenie oraz 3 białka 20 krotnie obniżone stężenie. W tym miejscu mam pewne wątpliwości co do tego, czy Habilitantka może zamiennie używać słowa stężenia i ekspresja. Wprawdzie istnieje ewidentny związek między ekspresją a stężeniem ale według mnie nie są to pojęcia tożsame. Największy wzrost stężenia udokumentowano dla białka NUCKS1. Następnie Habilitantka za pomocą programu STRING oraz przy wykorzystaniu algorytmów programu cytoHubba wytypowała 20 białek pełniących kluczową rolę z czego zmiany stężenia 6 z nich mogła doprowadzić do słabszej adhezji komórek chłoniaka w szczególności białka ITGAV, które jest integryną 5 alfa. Słowo „mogło” jest chyba kluczowe dla interpretacji wyników i dla wartości naukowej pracy. W pracy brakuje bowiem dowodów, że tak jest w istocie. Habilitantka podjęła próbę walidacji swoich wyników za pomocą cytometrii przepływowej, ale badaniem objęła tylko 3 białka ICAM, CD9 i CD79B i na podstawie tych 3 wyników Habilitantka wnioskuje, że generalnie ekspresja tych białek (choć Habilitantka nie podała w jaki sposób tę ekspresję mierzyła) koreluje z uzyskanymi wynikami w badaniach proteomicznych.

Habilitantka twierdzi, że jej praca jest pierwszą pracą pokazującą w sposób globalny jednoczesne zmiany białkowe licznych szlakach komórkowych. I tu znów muszę polemizować z tym stwierdzeniem. Prac na temat zmian ekspresji białek w chłoniakach jest ogromnie dużo, a po drugie z pracy Habilitantki nie wynika nic co by wzbogaciło lub uporządkowało naszą wiedzę na temat chłoniaków. Zaś dowody, że uzyskane wyniki są prawdziwe, są co najmniej skromne. Gdyby było inaczej praca znalazłaby najpewniej stosowne miejsce w wyżej notowanych czasopismach.

Kolejna praca będąca częścią rozprawy habilitacyjnej dotyczy rozwoju i charakteryzacji hodowli trójwymiarowych komórek chłoniakowych, które w standardowych warunkach nie tworzą sferoidów. Habilitantka w pracy opublikowanej w 2022 roku w *OncoTargets and Therapy* zweryfikowała szereg metod hodowli komórek 3D w tym metodę hodowli w kropli wiszącej na płytkach o niskiej adhezyności oraz w żelach agarozowych wykorzystując różne proporcje komórek chłoniakowych i komórek zrębu szpiku kostnego. Ta właśnie metoda opracowana przez Habilitantkę umożliwi formowanie się komórek w sferoidy o ściśle kontrolowanym rozmiarze i kształcie. Uzyskane sferoidy utrwalono w formalinie zatopiono w parafinie i wykonano z nich preparaty mikroskopowe. Habilitantka twierdzi, że uzyskany model znakomicie odzwierciedla oddziaływanie komórek stromalnych na komórki chłoniaka. Powyższe stwierdzenie Habilitantki nie jest poparte żadnymi argumentami i dlatego budzi pewną wątpliwość Recenzenta i raczej jest jej myśleniem życzeniowym. Niemniej sama metoda hodowli sprawdziła się dla komórek różnych linii komórkowych w hodowlach mieszanych z komórkami zrębu szpiku kostnego i pozwoliła na badanie wpływu doksorubicyny oraz ibrutinibu na hodowle mieszane. W przypadku

doksorubicyny nie zaobserwowała różnic między wpływem leku na sferoidy mieszane a sferoidami zbudowanymi z samych komórek chłoniakowych. Natomiast sferoidy mieszane wykazały istotnie mniejszą wrażliwość na ibrutinib. Na podstawie swoich wyników Habilitantka sugeruje, że komórki stromalne wykazują działanie ochronne na komórki chłoniaka w przypadku stosowania ibrutinibu. Eksperyment był jednak przeprowadzony przy bardzo niskich stężeniach ibrutinibu ze względu na wysoką wrażliwość komórek Ri-1 na działanie ibrutinibu, stąd wykazanie podobnych wyników przy zastosowaniu wyższych dawek ibrutinibu wzmocniłoby znacznie siłę wnioskowania Habilitantki.

Piąta praca cyklu habilitacyjnego opublikowana w Cells w 2022 roku jest znakomitym zwieńczeniem wcześniejszych prac Habilitantki dotyczy bowiem wykorzystania możliwości szczypiec optycznych do tworzenia połączeń adhezyjnych między komórkami chłoniaków nie-Hodgkina a komórkami zrębu szpiku kostnego przy budowie trójwymiarowego sferoidu mieszanego. Przeprowadzenie zaplanowanych doświadczeń wymusiło uprzednią modyfikację układu szczypiec optycznych. Wykonanie trójwymiarowej struktury sferoidu wymagało kontroli położenia pułapki optycznej w objętości próbki mikroskopowej. Pozycjonowanie pułapki optycznej w płaszczyźnie preparatu Habilitantka uzyskała za pomocą galwano-skanerów. W pierwszym etapie prac Habilitantka stworzyła sferoidy z komórek zrębu szpiku kostnego (linia HS-5) z wykorzystaniem żeli hydroagarozowych. W celu uzyskania sferoidu mieszanego, Habilitantka pułapkowała komórki chłoniaka i przemieszczała za pomocą wiązki lasera do powierzchni sferoidu szpiku kostnego, z którym pozostały w kontakcie do utworzenia stabilnego połączenia. Kolejne komórki chłoniaka były przyłączane do sferoidu aż do pokrycia jego powierzchni dwoma warstwami komórek. Manipulacje przeprowadzono na liniach Ri-1 (DLBCL) oraz Raji. Habilitantka mierzyła czas potrzebny do przyłączenia pojedynczej komórki chłoniaka do sferoidu. Komórki chłoniaka wykazały wysokie powinowactwo do sferoidu stromalnego tworząc połączenia adhezyjne przeciętnie między 10 a 20 sekundą od zainicjowania kontaktu dla obu linii komórkowych. W omawianej pracy Habilitantka sprawdziła również czy leki przeciwnowotworowe: doksorubicyna (DOX), ibrutinib (IBR) oraz pleryksaforu (AMD3100) wpływa na adhezję komórek chłoniaka do sferoidu szpiku kostnego. W tym celu komórki Ri-1 i Raji inkubowano przez 48 godzin z AMD3100, DOX, IBR lub z kombinacją dwóch leków AMD3100/DOX oraz AMD3100/IBR. Jak oceniono za pomocą szczypiec optycznych, traktowanie komórek pojedynczymi lekami nie wpłynęło na adhezję komórek chłoniaków. W przypadku zastosowania tych leków w skojarzeniu Habilitantka wykazała istotnie zmniejszoną adhezję do sferoidu komórek obu linii komórkowych, z czego największy wpływ na adhezję wykazała w przypadku inkubacji komórek linii Raji z AMD3100/IBR. W tym miejscu w pełni się zgadzam z wnioskami Habilitantki, że synergistyczny wpływ wspomnianych leków na właściwości adhezyjne został już dawno szeroko udokumentowany, natomiast dopiero zastosowanie nowej metody szczypiec optycznych umożliwiło ocenę tego efektu z niespotykaną jak twierdzi habilitantka dokładnością.

Powyższy cykl prac Habilitantka podsumowuje 7 wnioskami. Wniosek 1 obejmuje w pewnym zakresie wnioski 6 i 7. Są to według mnie najcenniejsze efekty badań naukowych Habilitantki i stanowią one nowatorski wkład w badania dotyczące chłoniaków. Wniosek 4 będący również podstawą patentu nagradzanego w Polsce i zagranicą budzi jednak moje wątpliwości. Przyczynkiem do tych wątpliwości są wyniki samej Habilitantki przedstawione we wniosku 2, że linie komórkowe chłoniaków (tu zakradł się błąd bo badanymi liniami były linie komórek chłoniaków nie-Hodgkina a nie chłoniaka Hodgkina) wykazują heterogenne właściwości adhezyjne charakterystyczne dla danej linii komórkowej, skąd można wnosić, że różnice w adhezji między limfocytami nienowotworowymi a nowotworowymi mogą nie zawsze być wystarczające do określenia ich typu. Wreszcie Habilitantka poprzez lakoniczność wniosku 5 dotyczącego różnic między proteomem komórek chłoniaka grudkowego pośrednio określa wartość uzyskanych przez siebie wyników.

### **3. Ocena istotnej aktywności naukowej**

Analiza bibliometryczna wykonana przez Dział Bibliografii i Bibliometrii Biblioteki Głównej Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu wskazała, że dr Kamila Duś-Szachniewicz jest autorem 27 publikacji w tym:

- 24 publikacji oryginalnych,
- 2 monografii naukowych,
- 1 publikacji poglądowej.

Sumaryczny wskaźnik oddziaływania publikacji tzw. IF wynosi 90,666. Punktacja MNiSW wszystkich prac ma wartość 1267,00. Łączna liczba cytowań wg bazy Web of Science wynosi 477 (449 z wyłączeniem autocytowań) a wartość indeksu Hirscha według bazy Web of Science: 9.

Przed uzyskaniem stopnia doktora Kandydatka opublikowała 13 prac o sumarycznym współczynniku IF 37, 975, po uzyskaniu stopnia doktora opublikowała 11 prac o łącznym IF 52,691. W 12 publikacjach jest pierwszym bądź ostatnim autorem, w 5 publikacjach jest drugim autorem.

Prowadzone przez dr Kamilę Duś-Szachniewicz badania mają charakter interdyscyplinarny, obejmują zagadnienia z zakresu biologii molekularnej, proteomiki, inżynierii optycznej, histopatologii oraz genetyki. Główne obszary badawcze to:

- Zastosowanie szczepień optycznych w biologii i medycynie,
- Analiza proteomiczna,
- Terapia fotodynamiczna w leczeniu wybranych nowotworów złośliwych człowieka,
- Identyfikacja i ocena przydatności biomarkerów nowotworowych.

Pierwszy obszar badawczy Kandydatki jest realizowany od 2012 roku we współpracy z dr hab. Sławomirem Drobczyńskim (Politechnika Wrocławska) w ramach kierowanych przez Kandydatkę

grantów LIDER Narodowego Centrum Badań i Rozwoju oraz OPUS Narodowego Centrum Nauki. Efektem badań było opracowanie metody identyfikacji patologicznych limfocytów B oraz komory pomiarowej będącej doposażeniem układu szczypiec optycznych, co jest przedmiotem publikacji prac wchodzących w zakres ocenianego cyklu habilitacyjnego. Wynalazki zostały zgłoszone do ochrony patentowej, a także zostały nagrodzone medalami: złotym medalem w trakcie 70 Międzynarodowej Wystawy Wynalazków IENA w Norymberdze oraz srebrnym medalem na 12 Międzynarodowej Warszawskiej Wystawie Wynalazków IWIS w Warszawie. Praca w tym obszarze została nagrodzona Polską Nagrodą Inteligentnego Rozwoju w kategorii „Innowacyjny młody lider nauki” pod patronatem Prezes Urzędu Patentowego RP, dr Alicji Adamczak. Owocem działalności w tym obszarze badawczym było współautorstwo w kilku publikacjach wieloosobowych.

Drugim obszarem badawczym prowadzonym w okresie przygotowywania dysertacji doktorskiej była analiza proteomu gruczolaka i gruczolakoraka jelita grubego z archiwalnych tkanek utrwalonych w formalinie i zatopionych w parafinie. Badanie zostało przeprowadzone w ramach przewodu doktorskiego w Departamencie Proteomiki Instytutu Biochemii Maxa Plancka w Martinsried, będącym światowym liderem w zakresie zastosowań proteomiki w biomedycynie. Dzięki zastosowaniu nowatorskich protokołów przygotowania próbek oraz najnowszej generacji spektrometrów masowych QExactive, analiza porównawcza profili białkowych archiwalnych tkanek gruczolaka, gruczolakoraka i przerzutu do węzłów chłonnych została wykonana z wysoką efektywnością na poziomie 10000 białek. Przyczyniło się to do lepszego poznania biologii tego nowotworu. Efektem badań była również walidacja metody MES-FASP na materiale archiwalnym. Dzięki zastosowaniu dwóch enzymów do proteolitycznego trawienia próbek, możliwa stała się analiza niespełna kompletnego proteomu (ok. 99%) badanej tkanki, w tym archiwalnych tkanek utrwalonych w parafinie, pozwalając na prowadzenie analiz porównywalnych z analizami genomicznymi. Metoda ta jest jedna z podstawowych metod w dziedzinie proteomiki klinicznej. Opisanie powyżej prace stały się podstawą rozprawy doktorskiej Kandydatki. Doświadczenia pozyskane przy realizacji pracy doktorskiej Kandydatka wykorzystała przy realizacji pracy trzeciej wchodzącej w skład cyklu habilitacyjnego.

Kolejny temat badawczy w którym uczestniczyła dr Kamil Duś-Szachniewicz w Zakładzie Patologii Ogólnej i Doświadczalnej Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu dotyczył zastosowanie terapii fotodynamicznej (PDT) w leczeniu nowotworów złośliwych człowieka. Obecnie terapia ta cieszy się dużym zainteresowaniem jako alternatywny sposób leczenia chorób, w szczególności nowotworowych. Jest to metoda mało inwazyjna, a ze względu na miejscowe podanie fotouczulacza jest możliwa do zastosowania u chorych, u których wykluczone są zabiegi chirurgiczne, chemioterapia i nawet radioterapia. Celem badań jest analiza właściwości różnych fotouczulaczy oraz ocena skuteczności terapii fotodynamicznej w indukowaniu apoptycznej śmierci komórek raka jelita grubego i raka piersi, co może przyczynić się do uznania terapii fotodynamicznej jako metody leczenia tych

nowotworów. Badania nad wpływem PDT na białka regulatorowe prowadzone są na liniach komórkowych oraz preparatach klinicznych. Jako fotosensybilizatora Kandydatka używała zarówno znane powszechnie prekursorowy protoporfiryny IX-kwasu-5-amino lewulinowego oraz ich estry, jak i nowo syntetyzowane związki. W ramach tej współpracy powstało pięć publikacji w latach 2011-2020 wszystkie w imaktowanych czasopismach. Kandydatka nie określiła swojego wkładu w powstanie tych prac ale biorąc pod uwagę miejsce kandydatki na liście współautorów (od 2 do 4 ) można przyjąć, że wkład Kandydatki w powstanie tych prac jest znaczący.

Ostatni obszar badawczy stanowi fazę walidacyjną wymienionych powyżej aktywności naukowych. Za pomocą immunohistochemicznych oraz genetycznych Kandydatka zweryfikowała potencjalną przydatność wybranych markerów raka jelita grubego, piersi oraz jamy ustnej do celów klinicznych. W większości badania te zostały wykonane w ramach współpracy wewnątrzuczelnianej co podkreśla interdyscyplinarność prowadzonych przez Kandydatkę badań. Owocem tych prac było 6 publikacji z czego 4 w czasopismach impaktowanych.

Należy podkreślić, że Kandydatka była kierownikiem trzech projektów badawczych finansowanych ze źródeł zewnętrznych:

1. Opracowanie multifunkcjonalnych szczypiec optycznych i mikrorobotów do badania wpływu zlokalizowanej hipertemii na komórki i sferoidy nowotworowe uzyskane z hodowli pierwotnych;
2. Wykorzystanie innowacyjnej technologii szczypiec optycznych w celu opracowania mało inwazyjnej terapii celowanej chłoniaków;
3. Analiza proteomu gruczolaka i gruczolakoraka jelita grubego metodą spektrometrii mas z wykorzystaniem archiwalnych tkanek zatopionych w parafinie.

Pierwszy projekt o numerze UMO-2017/27/B/ST7/01255 to grant OPUS 14 pozyskany z Narodowego Centrum Nauki realizowanego od 27.VII.2018 do 26.VII.2022 w funkcji kierownika projektu z ramienia partnera konsorcjum. W ramach tego projektu stworzono mikroroboty kontrolowane wiązką laserową. Narzędzia te pozwoliły za pomocą światła generować ciepło, mierzyć temperaturę oraz kwasowość, a także śledzić proces programowanej śmierci komórki w czasie rzeczywistym w modelu guza *in vitro*. Dodatkowo w ramach tego projektu zostały rozbudowane szczypce optyczne, które pozwoliły wybiórczo chwytać mikrorozmiarowe obiekty, w tym komórki, wielokomórkowe sferoidy oraz mikroroboty.

Drugi projekt to również grant LIDER/016/275/L-5/13/NCBR/2014 tym razem pozyskany w ramach konkursu z Narodowego Centrum Badań i Rozwoju. Grant ten był podstawą przedstawionych prac w ramach cyklu habilitacyjnego bowiem dotyczył zagadnienia rozpoznania możliwości rozróżniania komórek chłoniaków pobranych od pacjentów na drodze biopsji cienkoigłowej na podstawie ich



właściwości adhezyjnych, czyli tego, jak chętnie przylegają do sąsiadujących komórek i tworzą z nimi stabilne połączenia. W badaniach wykorzystany został skonstruowany na Politechnice Wrocławskiej układ holograficznych szczypiec optycznych, który dostosowano do potrzeb projektu. Efektem wykonanych prac było uzyskanie dwóch patentów (patent nr 228298 pn. Układ i sposób do holograficznego obrazowania metodą mikroskopii fluorescencyjnej z wygaszaniem przez emisję wymuszoną oraz patent nr 228233 pn. Sposób i układ do holograficznego obrazowania metodą mikroskopii fluorescencyjnej z wygaszaniem przez emisję wymuszoną oraz opublikowanie wyników badań w wiodących czasopismach optycznych. Dodatkowo, doświadczenie uzyskane w pracy nad właściwościami adhezyjnymi linii komórkowych, znalazło przełożenie w badaniach klinicznych. Wykazano, że opracowana metoda umożliwia odróżnienie komórek prawidłowych od patologicznych na podstawie czasu tworzenia kokultury z komórką zrębu (zgłoszenie patentowe nr P.423266 pn. Sposób diagnozowania nowotworów układu chłonnego oraz międzynarodowe zgłoszenie patentowe nr CT/PL/2018/000103 pn. Method for diagnosing neoplasms of lymphoid tissue). Sumaryczny Impact Factor opublikowanych prac wyniósł 17,122.

Wreszcie trzeci projekt to Stypendium „Grant Plus” Urzędu Marszałkowskiego Województwa Dolnośląskiego dla doktorantów, których badania przyczyniają się do transferu i rozwoju technologii. Okres kierowania projektem: 01.X.2013-20.IX.2014.

Kandydatka ponadto uczestniczyła w pięciu projektach badawczych finansowanych ze źródeł zewnętrznych jako Główny Wykonawca, Wykonawca oraz stypendysta.

Jest członkiem następujących towarzystw naukowych:

- Polskiego Towarzystwa Patologów,
- European Society for Photobiology,
- Alumni Association of Max Planck Institute of Biochemistry.

Podsumowując całość dotychczasowego dorobku naukowego dr Kamili Duś-Szachniewicz należy podkreślić jej wszechstronne i zróżnicowane zainteresowania badawcze oraz umiejętność samodzielnej i zespołowej pracy badawczej zarówno w ramach zespołu, w którym Kandydatka pracuje jak i w ramach współpracy wielośrodkowej. Należy również podkreślić umiejętność zdobywania środków do prowadzonych przez siebie badań oraz konsekwencji w realizacji prowadzonych badań. Pozyskanie materiału od chorych przez nie klinicystę jest osiągnięciem samym w sobie, co dowodzi dużej samodzielności naukowej i zdolności przekonywania innych do realizacji zakładanych przez siebie celów badawczych.

#### **4. Ocena działalności dydaktycznej i organizacyjnej**

Dr Kamila Duś-Szachniewicz od początku swojego zatrudnienia w Zakładzie Patologii Ogólnej jest aktywnym nauczycielem akademickim. Prowadzi zajęcia w formie wykładów i ćwiczeń nieklinicznych z patomorfologii dla studentów kierunku lekarskiego w języku polskim i angielskim. Kandydatka była opiekunem merytorycznym jednej pracy magisterskiej i jednej pracy doktorskiej, obecnie pełni również funkcję promotora pomocniczego przewodu doktorskiego. Duże pozytywne wrażenie dotyczące aktywności organizacyjnej Kandydatki wynika również z faktu, że pełniła funkcję opiekuna praktyk letnich dla obcokrajowców w ramach programu Erasmus+ oraz organizowania Dni Otwartych w Katedrze Patomorfologii dla kandydatów na studia medyczne. Wreszcie Kandydatka również zorganizowała też zajęcia praktyczne oraz lekcje przedsiębiorczości dla uczniów klas licealnych w Katedrze Patomorfologii.

#### **5. Inne aktywności i osiągnięcia**

Dowodem obiektywnego uznania osiągnięć Kandydatki są uzyskane wspólnie z innymi badaczami patenty, o czym była już mowa wcześniej w tej recenzji.

Za swoją działalność naukową Kandydatka była wielokrotnie nagradzana. Otrzymała m.in. Nagrodę Indywidualną I stopnia oraz Nagrodę Specjalną Indywidualną Rektora Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu, Polską Nagrodę Inteligentnego Rozwoju. Została również odznaczona złotym i srebrnym medalem za wynalazek dotyczący szczypiec optycznych w różnicowaniu limfocytów na międzynarodowych wystawach wynalazków.

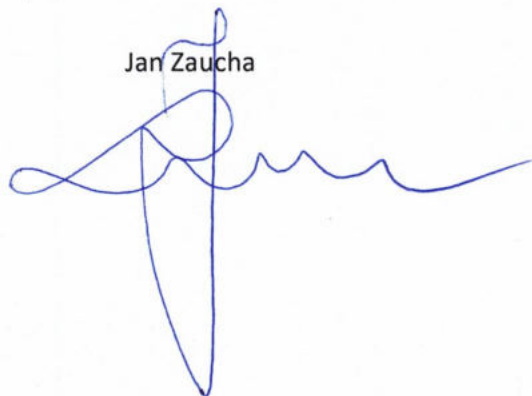
#### **6. Wniosek końcowy**

Recenzje prac zgłoszonych przez Kandydatkę do cyklu habilitacyjnego oraz ocenę jej dotychczasowego dorobku naukowego wykonałem z wielką przyjemnością. Po pierwsze dlatego, że recenzowane przez mnie prace są pracami innowacyjnymi i oryginalnymi. Po drugie dlatego, że Kandydatka jest w nich wszędzie pierwszym Autorem co dowodzi jej samodzielności w prowadzeniu badań naukowych. Wreszcie dlatego, że Kandydatka potrafiła na prowadzone badania pozyskać finanse w ramach konkursów grantowych. Pewna polemika Recenzenta dotycząca wartości uzyskanych przez Kandydatkę wyników mogą wynikać ze zbyt śmiałych stwierdzeń Kandydatki na temat znaczenia uzyskanych przez siebie wyników ale mogą jednak być nietrafne z racji orientacji klinicznej Recenzenta i postrzegania wyników głównie z tej perspektywy. Dlatego z pełnym przekonaniem zwracam się do

Rady Dyscypliny Nauki Medyczne Uniwersytetu Medycznego im. Piastów Śląskich we Wrocławiu o  
dopuszczenie dr Kamili Anny Duś-Szachniewicz do dalszych etapów postępowania habilitacyjnego.

Gdańsk 06.09.2023

Jan Zaucha

A handwritten signature in blue ink, consisting of a large, stylized initial 'J' followed by a series of loops and a long horizontal stroke.