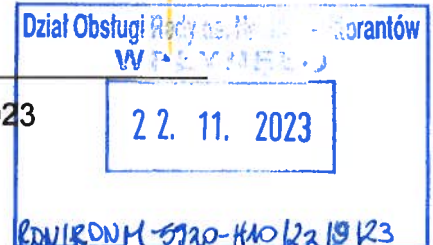




**ZAKŁAD BIOCHEMII I BIOLOGII MOLEKULARNEJ  
KATEDRA NAUK PODSTAWOWYCH  
UNIwersytet Medyczny w Lublinie**

20-093 Lublin, ul. dr W. Chodźki 1  
tel. fax 48 814486350

Lublin, 22.11.2023



**Recenzja**

Dotycząca postępowania habilitacyjnego Pani dr n.med. Alicji Chrzanowskiej w dziedzinie nauk medycznych i nauk o zdrowiu w dyscyplinie nauki medyczne na podstawie osiągnięcia naukowego pt. **„Ocena potencjału cytotoksycznego nowych koniugatów fluorochinolonów z kwasami tłuszczowymi oraz ich wpływu na metabolizm komórek nowotworowych i bakteryjnych”**

**Informacje o Habilitantce**

Dr n. med. Alicja Chrzanowska jest absolwentką kierunku Farmacja (2000) na Wydziale Farmaceutycznym Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego. Po ukończeniu studiów oraz obowiązkowego stażu w aptece została asystentem (11.2000 – 10.2008), a następnie adiunktem (od 2008 do chwili obecnej) w Katedrze i Zakładzie Biochemii Wydziału Lekarskiego WUM,

Dr Alicja Chrzanowska w 2008 roku uzyskała tytuł doktora nauk medycznych w zakresie biologii medycznej, nadany przez Radę I Wydziału Lekarskiego WUM na podstawie wyróżnionej rozprawy doktorskiej „Zmiany aktywności i ekspresji arginazy w marskości i pierwotnym raku wątroby”.

Doświadczenia zawodowe i naukowe Habilitantka pogłębiła poprzez współpracę krajową (głównie Uniwersytet Warszawski, Instytut Fizyki PAN) i zagraniczną oraz staż w zagranicznym ośrodku naukowym Molecular Epidemiology Laboratory Centre for Prevention, Diagnosis and Detection (CPDD). Cancer Prevention Unit (CPU) Wolfson Institute of population Health, London, UK (2 miesiące).

Pani dr n. med. Alicja Chrzanowska była kierownikiem projektu promotorskiego nr 0779/P05/2005/29 KBN “Changes in arginase activity and expression in cirrhosis and

hepatocellular carcinoma" (2005-2007). Była też głównym wykonawcą lub kierownikiem wewnętrznych projektów badawczych finansowanych przez WUM.

### **Działalność organizacyjna i dydaktyczna**

W zakresie działalności organizacyjnej Habilitantka była recenzentem manuskryptów w kilku czasopismach międzynarodowych o IF powyżej 3 (*Cancers, International Journal of Molecular Sciences, Life, Nutrients, Pharmaceuticals, Frontiers in Bioscience*), co świadczy o tym, że zaczyna być rozpoznawana w międzynarodowym środowisku naukowym. Była też recenzentką 3 prac magisterskich na Wydziale Farmaceutycznym WUM, pełniła lub pełni też funkcję promotora pomocniczego w jednym zakończonym i dwóch trwających przewodach doktorskich. Pani dr n. med. Alicja Chrzanowska jest członkiem Izby Aptekarskiej od 2004 roku oraz członkiem bazy ekspertów NAWA oraz komisji egzaminacyjnej z biologii kandydatów na WUM z bloku wschodniego od 2018 roku.

W zakresie dydaktyki Habilitantka od wielu lat prowadzi zajęcia ze studentami kierunku lekarskiego, lekarsko-dentystycznego z biochemii w języku polskim i angielskim. Prawowała też opiekę merytoryczną nad studentami z zagranicy w ramach programu Erasmus. Została też uhonorowana Medalem Komisji Edukacji Narodowej za działalność dydaktyczną.

### **Ocena dorobku naukowego**

Z analizy dorobku naukowego dr Alicji Chrzanowskiej wynika, że poza pracami wchodzącymi w skład osiągnięcia naukowego (4 artykuły, IF **24,492**) jest Ona autorem lub współautorem 20 publikacji oryginalnych pełnotekstowych oraz 3 poglądowych z IF. W sumie Pani dr n. med. Alicja Chrzanowska opublikowała 35 prac oryginalnych lub poglądowych, gdzie w 11 (z IF) jest pierwszą lub korespondującą autorką. Łączny Impact Factor wszystkich publikacji wynosi ponad 94. Łączna punktacja MNiSW wynosi ponad 1997 (stan na 02.03.2023). Liczba cytowań według bazy Web of Science wynosi 338 (bez autocytowań 313), indeks Hirscha 10. Zwraca uwagę niska liczba autocytowań.

Dr Alicja Chrzanowska brała czynny udział w 19 międzynarodowych i krajowych kongresach naukowych prezentując doniesienia ustne na 11 konferencjach.

Za działalność naukową była wielokrotnie nagradzana (10 nagród) przez JM Rektora Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego, otrzymała też dwie prestiżowe nagrody na konferencjach młodych naukowców.

Główne zainteresowania badawcze Habilitantki (poza doniesieniem naukowym) dotyczą m.in. aktywności arginazy u pacjentów z chorobami nowotworowymi (w tym raka piersi, raka jelita grubego) w materiale klinicznym (krew, guzy otrzymane pooperacyjnie),

sugerując że zmiany w jej aktywności mogą być związane z nasileniem lub wznową procesu nowotworowego. Podobne aspekty badań dr Alicji Chrzanowskiej dotyczyły roli arginazy w marskości wątroby i raka tego narządu – oprócz zmian w aktywności tego enzymu Habilitantka wykazała również zróżnicowaną ekspresję izoenzymów arginazy, wiążąc obecność izoenzymu All z obecnością nowotworu wątroby oraz przeszczepieniem tego narządu. Obecnie prowadzi badania w celu wytworzenia szybkiego testu oceniającego aktywność arginazy w celu użycia go jako markera procesu nowotworowego, którego czułość i specyficzność miałyby przewyższać użyteczność powszechnie używanych testów - wykrywania antygenu karcynoembrionalnego (CEA) i antygenu Ca 19-9.

Inne zainteresowania badawcze Habilitantki dotyczą roli hipoksji w środowisku guza nowotworowego i związanych z tym zmian w układach oksydoredukcyjnych komórek nowotworowych w warunkach *in vitro* oraz potencjalnego zastosowania antyoksydantów jako związków cytotoksycznych w stosunku do komórek nowotworowych. Brała też udział w poszukiwaniu i testowaniu nowych grup związków chemicznych jako potencjalnych cytostatyków – m.in. pochodnych tiomocznika i ich chelatów z Cu, leków używanych obecnie z innych wskazań (telmisartan), czy koniugatów różnych związków.

Autorka posługuje się szerokim wachlarzem technik badawczych – począwszy od hodowli komórek nowotworowych, poprzez standardowe techniki biochemiczne (elektroforezy, testy przeżywalności, cytometrii przepływowej, ELISA) oraz zaawansowane techniki proteomiczne i metabolomiczne, po analizy *in silico* (dokowanie molekularne), co świadczy o bardzo dobrym opanowaniu warsztatu eksperymentalnego.

### **Ocena osiągnięcia naukowego**

Prezentowany cykl prac będący osiągnięciem naukowym jest spójny tematycznie, koncentruje się wokół potencjału cytotoksycznego cyprofloksacyny i moksyflokscacyny, a także ich koniugatów wzbogaconych o cząsteczkę lipidową kwasów tłuszczowych w odniesieniu do komórek nowotworowych i bakterii w warunkach *in vitro*. Podjęty temat badawczy jest jak najbardziej celowy i oryginalny. Oceniany cykl publikacji składa się z 4 oryginalnych prac pełnotekstowych o łącznym IF równym **24,492**.

W pierwszym etapie badań Dr Alicja Chrzanowska wyszła z założenia, że choć antybiotyk ciprofloksacyna (CP) ma słabe działanie cytotoksyczne względem komórek nowotworowych w dopuszczalnych stężeniach, to połączenie tego związku z kwasami tłuszczowymi (KT) może zwiększyć cytotoksyczność i biodostępność takiego koniugatu w stosunku do wyjściowej cząsteczki, co zostało wykazane przez Autorkę, potwierdzając słuszność hipotezy

badawczej. W pracy **Chrzanowska A**, Roszkowski P, Bielenica A, Olejarz W, Stępień K, Struga M. Anticancer and antimicrobial effects of novel ciprofloxacin fatty acids conjugates. *Eur J Med Chem.* 2020;185:1–11 stosując różnego typu podstawniki w postaci KT, wykazała które połączenia CP-KT okazały się najbardziej skuteczne w kwestii hamowania przeżywalności (oceniane poprzez wartość IC50) oraz indukcji apoptozy w kilku rodzajach linii komórek nowotworowych (m.in. raka jelita grubego z ogniska pierwotnego i jego przerzutu oraz raka prostaty). Należy podkreślić, że Habilitantka posłużyła się też kontrolą linii komórek prawidłowych, nie stwierdzając w niej apoptozy po zastosowaniu badanych substancji w odróżnieniu od komórek nowotworowych, gdzie była ona obecna, co może świadczyć o pewnej specyficzności badanych związków w stosunku do komórek nowotworowych. Badane koniugaty CP-KT wykazywały zróżnicowaną aktywność względem różnych rodzajów komórek nowotworowych, co umożliwiło selekcję tych najbardziej aktywnych do dalszych badań. W pracy tej zawarto również dodatkową analizę aktywności przeciwbakteryjnej otrzymanych CP-WKT, choć moim zdaniem, mogłyby one stanowić odrębną pracę, gdyż trudno jest je połączyć tematycznie – mają inne mechanizmy działania w komórkach nowotworowych i bakteriach.

Konsekwencją uzyskanych wyników w pierwszej, wyżej opisanej pracy cyklu publikacji, gdzie Habilitantka wykazała największą wrażliwość linii raka prostaty PC3 na działanie CP-KT, było rozwinięcie badań i ocena przeciwnowotworowego wpływu CP-KT na inne linie raka prostaty – publikacja **Chrzanowska A\***, Olejarz W, Kubiak-Tomaszewska G, Ciechanowicz A, Struga M. The Effect of Fatty Acids on Ciprofloxacin Cytotoxic Activity in Prostate Cancer Cell Lines - Does Lipid Component Enhance Anticancer Ciprofloxacin Potential? *Cancers (Basel).* 2022;87:905– 917. Dr Alicja Chrzanowska potwierdziła, że efekt obserwowany względem komórek PC3 nie był specyficzny tylko dla tej linii, ale rozciągał się na inne linie raka prostaty – co świadczy o uogólnionym efekcie działania CP-KT w stosunku do raka prostaty. Co więcej, wydaje się że niewrażliwa hormonalnie linia DU-145 była bardziej czuła na zastosowane koniugaty, co może mieć znaczenie kliniczne w przyszłości (tego typu nowotwory są bardziej odporne na leczenie), wymaga to jednak wielu dalszych badań. Dodatkową wartością tej publikacji było wykonanie badań proteomicznych, które wykazały wpływ CP-KT na ekspresję białek zaangażowanych w przemianę metaboliczną i transport lipidów. Szczególną uwagę należy zwrócić na kilkukrotne obniżenie ekspresji kluczowych enzymów szlaku syntezy kwasów tłuszczowych, co może mieć wpływ na obserwowane obniżenie przeżywalności komórek nowotworowych, choć mechanizm molekularny tego zjawiska nie jest jasny.

Trzecia praca cyklu (**Chrzanowska A**, Struga M, Roszkowski P, Koliński M, Kmiecik S, Jałbrzykowska K, Zabost A, Augustynowicz-Kopec E, Wrzosek M, Stefańska J, Bielenica A. The effect of conjugation of ciprofloxacin and moxifloxacin with fatty acids on their

antibacterial and anticancer activity. *Int J Mol Sci.* 2022;23(11):1-28) jest kontynuacją oceny antynowotworowego wpływu koniugatów antybiotyku i KT w liniach komórkowych raka prostaty i raka jelita grubego. W publikacji tej Autorka rozszerzyła badaną grupę związków na połączenia fluorochinolonu IV generacji – moksyflokscyny (MXF) i KT, co było nowością w stosunku do pierwszej publikacji cyklu. Schemat badawczy był jednak bardzo zbliżony. Znaczącą część badań stanowiły ponownie aspekty przeciwbakteryjnego działania w/w związków, które rozszerzono o analizę *in silico* dokowania molekularnego testowanych koniugatów w stosunku do bakteryjnej gyrazy DNA. Na uwagę zasługuje testowanie nowych związków na szczepach bakteryjnych izolowanych od pacjentów, choć efekty działania koniugatów były zapewne nieco rozczarowujące dla Habilitantki, gdyż tylko niektóre z nich były bardziej aktywne niż MXF w formie nieskoniugowanej z KT. Ciekawą obserwacją było wykazanie, że jeden z koniugatów - MXF-DHA okazał się kilkanaście razy bardziej skuteczny w stosunku do szczepu prątków gruźlicy opornego na powszechnie stosowane tuberkulostatyki, co może służyć jako podstawa do dalszych badań w tym kierunku.

Czwarta z prac cyklu (Chrzanowska A, Kurpios-Piec D, Żyżyńska-Granica B, Kiernozek-Kalińska E, Lay WX, Ciechanowicz A, Struga M. Anticancer activity and metabolic alteration in colon and prostate cancer cells by novel moxifloxacin conjugates with fatty acids. *Eur J Pharmacol.* 2023; 940:1- 12) ograniczona została do badań przeciwnowotworowego działania najbardziej obiecujących koniugatów MFX-KT w poprzednio stosowanych liniach komórkowych raka jelita grubego i raka prostaty w schemacie eksperymentalnym stosowanym w poprzednich publikacjach cyklu, wzbogaconym o analizę sygnalizacji wewnątrzkomórkowej szlaku NFkB oraz analizę metabolomiczną. Ta ostatnia jest szczególnie ciekawa, dając wgląd w zmiany na poziomie szlaków metabolicznych syntezy lipidów, w tym fosfolipidów, prostaglandyn i hormonów sterydowych pod wpływem stosowanych koniugatów MFX-KT. Interesująco poprowadzona dyskusja w tej pracy zwraca uwagę na wpływ zaobserwowanych zmian metabolomicznych na proliferację komórek nowotworowych, sugerując kierunki przyszłych badań w tym zakresie.

Reasumując, osiągnięcie naukowe " **Ocena potencjału cytotoksycznego nowych koniugatów fluorochinolonów z kwasami tłuszczowymi oraz ich wpływu na metabolizm komórek nowotworowych i bakteryjnych**" jest kompilacją czterech prac oryginalnych opublikowanych w czasopiśmie o międzynarodowym zasięgu w uznanych czasopiśmie z IF. We wszystkich publikacjach oryginalnych wchodzących w skład osiągnięcia Habilitantka jest pierwszym autorem. Oryginalność i jakość naukowa omawianych publikacji jest wysoka, w każdej z nich dr Alicja Chrzanowska była współtwórcą koncepcji i analizy wyników realizowanych badań, których dużą część wykonała samodzielnie, co potwierdza jej kluczowy udział w powstaniu i publikacji tych prac. Swój

procentowy udział w realizacji poszczególnych artykułów Habilitantka oszacowała odpowiednio na 70% w pierwszej, drugiej i czwartej pracy, oraz 60% w trzeciej pracy cyklu, co w pełni spełnia kryteria stawiane dla tego typu opracowań.

### **Wnioski końcowe**

Podsumowując, pragnę podkreślić, że dorobek naukowy i osiągnięcia habilitacyjne Pani dr Alicja Chrzanowska charakteryzują się wysokim poziomem naukowym i są znaczące. Oryginalne wyniki i zademonstrowany warsztat badawczy są gwarantem dalszego rozwoju naukowego Habilitantki. Dlatego uważam, że dr Alicja Chrzanowska spełnia kryteria i wymogi stawiane przed osobą ubiegającą się o tytuł doktora habilitowanego w dziedzinie nauk medycznych i nauk o zdrowiu, w dyscyplinie nauki medyczne, określone Ustawą o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz stopniach i tytule w zakresie sztuki w aktualnie obowiązującym brzmieniu (*art. 219 Ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz.U. poz. 1668, z późn. zm.)*).

Wnoszę zatem do Wysokiej **Rady Dyscypliny Nauk Medycznych Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego** wniosek o dopuszczenie dr Alicji Chrzanowskiej do dalszych etapów przewodu habilitacyjnego.

Prof. dr hab. n. med. Andrzej Stepulak