



UNIwersYTET JAGIELLOŃSKI
COLLEGIUM MEDICUM
W KRAKOWIE

Wydział Farmaceutyczny



Kraków, 20.11.2023 r.

dr hab. Tadeusz Librowski, prof. UJ
Katedra Farmakobiologii, Zakład Radioligandów
Wydział Farmaceutyczny
Uniwersytetu Jagiellońskiego Collegium Medicum
ul. Medyczna 9, 30-688 Kraków

Ocena dorobku naukowego, dydaktycznego i organizacyjnego
Pani dr n. med. Alicji Chrzanowskiej w postępowaniu habilitacyjnym o stopień
doktora habilitowanego w dziedzinie nauk medycznych i nauk o zdrowiu,
dyscyplina nauki medyczne

Podstawowe dane o Kandydatce

Pani doktor nauk medycznych Alicja Chrzanowska uzyskała dyplom magistra farmacji w roku 2000, na podstawie pracy magisterskiej pt. „Oznaczanie zawartości czterochloroku węgla i chloroformu w powietrzu na stanowisku pracy metodą HPLC” wykonanej w Zakładzie Bioanalizy Środowiska Wydziału Farmaceutycznego Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego. Promotorem pracy był Pan Prof. dr. hab. n. farm. Józef Sawicki, recenzentem Pan Prof. dr hab. Jan Pachecka.

Stopień doktora nauk medycznych uzyskała w roku 2008, na Wydziale Lekarskim Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego na podstawie rozprawy: „Zmiany aktywności i ekspresji arginazy w marskości i pierwotnym raku wątroby”, którą obroniła z wyróżnieniem. Promotorem była Pani Prof. dr hab. Anna Barańczyk-



UNIwersytet Jagielloński
Collegium Medicum
W KRAKOWIE

Wydział Farmaceutyczny

Kuźma; recenzentami Prof. dr hab. Edward Bańkowski, Prof. dr hab. Sławomir Maśliński.

Od ukończenia studiów do chwili obecnej Jej praca badawczo-dydaktyczna związana jest z Katedrą i Zakładem Biochemii, I Wydziału Lekarskiego przy Warszawskim Uniwersytecie Medycznym. Pani dr n. med. Alicja Chrzanowska od listopada 2000 r. do października 2008 r. była zatrudniona jako asystent naukowo-dydaktyczny, od listopada 2008 r. do czerwca 2015 r. jako adiunkt naukowo-dydaktyczny, natomiast od listopada 2017 r. do chwili obecnej jest adiunktem naukowo-dydaktycznym na Wydziale Lekarskim, Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego.

Ocena osiągnięcia habilitacyjnego

Przedłożone do oceny osiągnięcie naukowe zatytułowane jest: „**Ocena potencjału cytotoksycznego nowych koniugatów fluorochinolonów z kwasami tłuszczowymi oraz ich wpływu na metabolizm komórek nowotworowych i bakteryjnych**”.

Jest to cykl czterech prac oryginalnych (publikacje H1 - H4), opublikowanych w latach 2020-2023 o łącznej wartości wskaźnika IF wynoszącej **24,492** oraz łącznej punktacji Ministerstwa Edukacji i Nauki – **520**.

Należy podkreślić, że Habilitantka we wszystkich pracach jest pierwszym autorem oraz autorem korespondencyjnym w jednej z prac, co jest jednym z kluczowych wymogów w publikacjach zaliczanych do osiągnięcia naukowego w ubieganiu się o stopień naukowy doktora habilitowanego. Przekłada się to jednoznacznie na Jej dominujący wpływ w realizację badań i publikowanie otrzymanych wyników oraz jest w pełni zgodne z deklarowanymi oświadczeniami współautorów publikacji.



UNIwersytet Jagielloński
COLLEGIUM MEDICUM
W KRAKOWIE

Wydział Farmaceutyczny

Przedstawiony cykl badań dotyczy poszukiwania efektywnych i selektywnych pochodnych fluorochinolonów oraz kwasów tłuszczowych, które mogą zostać zastosowane w prewencji i/lub leczeniu nowotworów. Przeprowadzone badania pozostają w ścisłym związku z wcześniejszymi i obecnymi zainteresowaniami naukowymi Habilitantki, koncentrującymi się wokół metabolizmu komórki nowotworowej i poszukiwaniu jego „słabych punktów”, które mogłyby stać się celem terapeutycznym.

Choroby nowotworowe należą do grupy chorób cywilizacyjnych i obejmują coraz szerszą grupę populacji ludzkiej stanowiąc jedną z głównych przyczyn zgonów, bez względu na płeć i wiek. Co roku dane statystyczne wskazują na raka jelita grubego, płuc, prostaty i piersi, jako dominujące wśród zdiagnozowanych guzów litych u pacjentów.

W terapii nowotworowej wciąż kluczowe znaczenie ma zastosowanie chemioterapii, gdyż zarówno resekcja chirurgiczna, jak i radioterapia nie zawsze mogą być użyte ze względu na lokalizację guza, jego rodzaj czy też stopień zaawansowania. Obecnie w celu hamowania proliferacji komórek nowotworowych stosuje się wiele substancji aktywnych, ale wciąż istnieje potrzeba opracowania związków charakteryzujących się bezpieczeństwem stosowania, skutecznością i selektywnością, bez wywołania poważnych działań niepożądanych, które często uniemożliwiają kontynuację terapii. Dlatego też cały czas prowadzone są badania mające na celu uzyskiwanie nowych, coraz bardziej skutecznych leków przeciwnowotworowych, zapewniających efektywną farmakoterapię tej choroby. Dobrą strategią, która pozwala skrócić czas, obniżyć koszty wprowadzania nowych leków na rynek, a także zmniejszyć ryzyko nieoczekiwanych skutków ubocznych, jest zmiana przeznaczenia leku, nazywana również repozycjonowaniem lub reprofilowaniem. Obejmuje ono identyfikację nowych zastosowań już zatwierdzonych i przebadanych leków, które wykraczają poza zakres



UNIwersytet Jagielloński
Collegium Medicum
w Krakowie

Wydział Farmaceutyczny

ich pierwotnego wskazania medycznego (*off-label*). Biorąc pod uwagę potencjał cytotoksyczny, nie tylko przeciwko komórkom bakteryjnym, ale również, jak wykazały badania *in vitro* oraz *in vivo*, przeciwko komórkom nowotworowym, doskonałymi kandydatami wydają się być fluorochinolony. Jest to szeroka grupa chemioterapeutyków, znanych z aktywności hamującej bakteryjne topoizomerazy: typu II (gyrazę DNA) i topoizomerazę IV, które są odpowiedzialne za replikację, transkrypcję, a także naprawę i rekombinację DNA bakterii.

Bazując na doniesieniach literaturowych, zostały zaprojektowane, a następnie zsyntetyzowane przez dr. hab. Piotra Roszkowskiego z Pracowni Chemii Związków Naturalnych UW, koniugaty cząsteczki cyprofloksacyny i moksyfloksacyny z kwasami tłuszczowymi. Uzyskane związki Habilitantka przebadła i oceniła ich potencjał cytotoksyczny oraz porównała ich działanie w zależności od rodzaju kwasu tłuszczowego użytego do modyfikacji, jak i typu linii komórkowej. Przeprowadzona analiza danych pozwoliła na wyselekcjonowanie optymalnych połączeń wyjściowego fluorochinolonu z odpowiednim fragmentem acylowym. Umożliwiło to przeprowadzenie bardziej zaawansowanych badań nad mechanizmami cytotoksycznego działania najaktywniejszych nowych pochodnych. Habilitantka oceniła również wpływ tych związków na intensywność ekspresji białek enzymatycznych, magazynujących, czy też transportujących oraz metabolitów zaangażowanych w przemiany lipidów w komórkach nowotworowych. Celem przeprowadzenia poszerzonych badań było ustalenie, czy nowo zsyntetyzowane koniugaty ze zwiększoną aktywnością cytotoksyczną, nie tracą jednocześnie aktywności przeciwbakteryjnej, czy też może zyskują jakiś dodatkowy potencjał np. przeciwko szczepom lekoopornym. W tym celu Habilitantka koordynowała oraz uczestniczyła w wielośrodkowych badaniach aktywności przeciwbakteryjnej otrzymanych amidów.



UNIwersytet Jagielloński
Collegium Medicum
w Krakowie

Wydział Farmaceutyczny

Habilitantka swoje zainteresowania badawcze skupia na programowaniu metabolicznym komórek nowotworowych jako potencjalnym celu terapeutycznym. W swoich pracach eksperymentalnych wykorzystwała lipofilne koniugaty dwóch fluorochinolonów, cyprofloksacyny i moksyfloksacyny z kwasami tłuszczowymi o zróżnicowanym stopniu nasycenia i długości łańcucha wodorowęglowego. Oceniała ich potencjał cytotoksyczny, działanie proapoptotyczne i wpływ koniugatów fluorochinolonów na przemiany metaboliczne komórek nowotworowych (nowotwór prostaty, nowotwór jelita grubego), komórki prawidłowe (keratynocyty, nabłonek prostaty) oraz szczepy bakteryjne (*Escherichia coli*, izolaty *Staphylococci*, *Enterococcus hirae*, *Pseudomonas aeruginosa* oraz *Mycobacterium tuberculosis*).

Potwierdziła silniejsze działanie cytotoksyczne koniugatów, w porównaniu do związków macierzystych. Koniugaty moksyfloksacyny charakteryzowała większa aktywność niż połączenia cyprofloksacyny. Potwierdziła profil bezpieczeństwa nowych związków w komórkach prawidłowych. Koniugacja cyprofloksacyny z kwasem oleinowym i elaidynowym skutkowała najsilniejszym działaniem indukującym późną apoptozę w komórkach przerzutowego raka prostaty PC3. Najsilniejsze działanie proapoptotyczne wobec pierwotnych komórek raka jelita SW480, wywierały koniugaty kwasu dokozaheksaenowego, sorbowego i elaidynowego. Ponadto koniugaty cyprofloksacyny hamowały wzrost przerzutowych linii komórkowych raka okrężnicy SW620. Spośród dziewięciu testowanych związków trzy sprzężone z kwasem oleinowym, elaidynowym i dokozaheksaenowym wykazywały najsilniejsze działanie cytotoksyczne wobec komórek nowotworowych raka prostaty (LnCaP i DU145). Koniugat cyprofloksacyny z kwasem elaidynowym najsilniej zmniejszył ilość wydzielanej interleukiny 6 w komórkach DU145.

Z kolei w komórkach LNCaP poszczególne koniugaty, ale również sama cyprofloksacyna w podobnym stopniu zahamowały wydzielanie tej prozapalnej cytokiny. Stosując analizę proteomiczną dla linii PC3 oraz prawidłowego nabłonka



UNIwersytet Jagielloński
Collegium Medicum
w Krakowie

Wydział Farmaceutyczny

prostaty, Habilitantka zaobserwowała, że białka związane z metabolizmem lipidów m.in. białko wiążące kwasy tłuszczowe 5, czy syntaza kwasów tłuszczowych, promują agresywny fenotyp PCa i mogą być uznane za cel terapeutyczny. Zastosowane koniugaty, szczególnie połączenie z kwasem sorbowym i oleinowym, znacząco obniżyły poziom białka wiążącego kwasy tłuszczowe 5.

Autorka wyselekcjonowała optymalne połączenia macierzystego fluorochinolonu - cyprofloksacyny z kwasem sorbowym, kwasem oleinowym, elaidynowym i dokozaheksaenowym oraz moksyflokscyny z kwasami oleinowym i stearynowym. Potwierdziła ich silne działanie supresyjne na progresję nowotworu, z preferencyjnym działaniem na raka prostaty.

W kolejnych eksperymentach analizowała profil antybakteryjny zarówno amidów moksyflokscyny, jak i koniugatów cyprofloksacyny. Wykazała wysoką aktywność tych związków przeciwko szczepom gronkowców. Podjęła również próbę rozszerzenia testów mikrobiologicznych o panel kliniczny zawierający metacyclinooporne szczepy *Staphylococcus epidermidis* (MRSE), izolowane od pacjentów szpitali klinicznych Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego. Zaobserwowała, że koniugaty cyprofloksacyny i moksyflokscyny z kwasem krotonowym i sorbowym znacznie hamowały wzrost bakterii.

Wśród badań przeciwdrobnoustrojowych analizowała również szczepy *Mycobacterium tuberculosis*. Optymalne dla przeciwgruźliczej aktywności okazało się połączenie moksyflokscyny z kwasem dokozaheksaenowym i kwasem arachidonowym, których działanie było od 8 do 16 razy silniejsze, niż referencyjne tuberkulostatyki.

Habilitantka potwierdziła zmieniony metabolizm lipidów w komórkach nowotworowych, związany zarówno z wyższym poziomem białek transportujących i magazynujących lipidy, jak również syntezą kwasów tłuszczowych *de novo* oraz obecnością prozapalnych eikozanoidów. Wykazała, że koniugaty cyprofloksacyny



UNIwersYTET JAGIELLOŃSKI
COLLEGIUM MEDICUM
W KRAKOWIE

Wydział Farmaceutyczny

z kwasem sorbowym, kwasem oleinowym i elaidynowym obniżają poziom białek zaangażowanych w progresję nowotworu. Koniugaty moksyflokscyny, mogą być wykorzystane w terapii onkologicznej, ze względu na potwierdzone działanie cytotoksyczne i przeciwzapalne.

Analizując wyniki uzyskane w eksperymentach *in vitro* oraz *in silico*, Habilitantka ustaliła mechanizm działania przeciwnowotworowego oraz przeciwbakteryjnego nowych związków, jak również uzyskała wyraźne potwierdzenie ich bezpieczeństwa, poprzez wykazanie braku cytotoksycznego działania na prawidłowo namnażające się komórki ludzkie.

Ocena dorobku naukowego

Dorobek naukowy Habilitantki uległ znacznemu zwiększeniu po uzyskaniu stopnia doktora nauk medycznych. Możemy wymienić 21 prac oryginalnych i 3 prace poglądowe (IF= 69,566; punkty MEiN=925) według analizy bibliometrycznej z dnia 02.03.2023 r. W dorobku naukowym należy również uwzględnić udział w konferencjach międzynarodowych i krajowych – 9. krajowych i 10. zagranicznych.

Należy podkreślić, iż w realizacji działalności naukowej Pani dr n med. Alicja Chrzanowska rozwija współpracę z ośrodkami krajowymi (*Pracownia Chemii Związków Naturalnych, Wydział Chemii Uniwersytetu Warszawskiego; Zakład Mikrobiologii Farmaceutycznej WUM; Laboratorium Medycyny Regeneracyjnej WUM; Zakład Biochemii i Farmakogenomiki, Wydział Farmaceutyczny WUM; Zakład Immunologii, Uniwersytet Warszawski; Zakład Mikrobiologii Instytutu Gruźlicy i Chorób Płuc w Warszawie; Pracownia Teorii Biopolimerów Wydziału Chemii Uniwersytetu Warszawskiego; Instytut Medycyny Doświadczalnej i Klinicznej im. M. Mossakowskiego PAN; Instytut Fizyki PAN w Warszawie; II Zakładu Radiologii WUM*) oraz zagranicznymi (*Dipartimento di Scienze Biomediche, Sezione di Microbiologia e Virologia, Università degli Studi di Cagliari, Monserrato, Włochy;*



UNIWERSYTET JAGIELLOŃSKI
COLLEGIUM MEDICUM
W KRAKOWIE

Wydział Farmaceutyczny

Molecular Epidemiology Laboratory Centre for Prevention, Diagnosis and Detection (CPDD). Cancer Prevention Unit (CPU) Wolfson Institute of population Health; Wielka Brytania, Department of Medicine Huddinge, Center for Hematology and Regenerative Medicine, Karolinska Institute, Szwecja).

Habilitationka w latach 2005-2006 była Kierownikiem projektu „Rola izoenzymów arginazy w patogenezie chorób wątroby”. W okresie 2007-2008 - Głównym wykonawcą w projekcie promotorskim „Ekspresja arginazy w marskości i raku wątrobowo-komórkowym”. W latach 2014-2015 wykonawcą projektu „Glutaminoliza jako szlak kluczowy dla przeżycia i proliferacji komórek raka jelita grubego w warunkach obniżonej dostępności tlenu”. Projekty te były finansowane ze środków AM i WUM.

W latach 2005 – 2007 realizowała jako Kierownik projektu, promotorski Projekt Badawczy Komitetu Badań Naukowych – *„Changes in arginase activity and expression in cirrhosis and hepatocellular carcinoma”*.

Podsumowując, całociowy dorobek naukowy habilitantki (łącznie z 4. pracami zaliczonymi do osiągnięcia naukowego) to 35 prac, IF= **94,058**; punkty MEiN = **1997**, **indeks Hirscha=10** (wg bazy Web of Science/Scopus). Liczba cytowań **372** (bez autocytowań).

Całokształt dorobku naukowego Pani dr n med. Alicji Chrzanowskiej należy ocenić bardzo wysoko, mając na uwadze nie tylko wskaźniki publikacyjne, ale również tematykę badawczą i zastosowany warsztat eksperymentalny. Niewątpliwie, stosowane metody badań, interpretacja otrzymanych wyników, świadczą o wysokiej znajomości problemu przez Habilitantkę i czynią Ją ekspertem w tej tematyce. O rozpoznawalności naukowej, szczególnie w realizowanej tematyce badawczej mogą świadczyć liczne recenzje prac naukowych w renomowanych czasopismach takich jak *Cancers, International Journal of Molecular Sciences, Life, Nutrients, Pharmaceuticals, czy Frontiers in Bioscience*.



UNIWERSYTET JAGIELLOŃSKI
COLLEGIUM MEDICUM
W KRAKOWIE

Wydział Farmaceutyczny

O znakomitej woli samokształcenia interdyscyplinarnego świadczy uczestnictwo w licznych kursach i szkoleniach. W latach 2003-2004 odbyła staż w aptece ogólnodostępnej. Odbyła również staże wakacyjne Programu Cepus „*International Biomedicine Student's Council Summer*” w Chorwacji (2004, 2006 i 2008 r.). W roku 2014 uczestniczyła w szkoleniach organizowanych przez firmy Merck, ABO i TS – „*Method of cell analysing*” oraz „*Technologia RNA i jej zastosowanie w badaniach biologicznych*”.

W roku 2022 przebywała jako „*visiting researcher*” w Molecular Epidemiology Laboratory Centre for Prevention, Diagnosis and Detection (CPDD). Cancer Prevention Unit (CPU) Wolfson Institute of population Health, Londyn, Wielka Brytania, gdzie zapoznawała się z najnowszymi metodami badań genetycznych i epigenetycznych stosowanych w onkologii.

Ocena działalności dydaktycznej i organizacyjnej

Działalność dydaktyczna Kandydatki dominująco związana jest z prowadzeniem zajęć seminaryjnych i ćwiczeń dla studentów II roku I Wydziału Lekarskiego i Wydziału Lekarsko-Dentystycznego. Prowadziła również zajęcia ze studentami Oddziału English Division – Medicine oraz English Dentistry Division. Przygotowywała i przeprowadzała kolokwia i egzaminy testowe dla studentów wyżej wymienionych kierunków. Była recenzentem prac magisterskich na Wydziale Farmaceutycznym WUM. Pełniła funkcję promotora pomocniczego w zakończonym przewodzie doktorskim Pana doktora Leszka Kraja z Kliniki Onkologii UCK WUM – „*Zmiany metabolizmu L- argininy u dzieci z astmą oskrzelową*”.

Obecnie pełni funkcję promotora pomocniczego przy realizacji dwóch doktoratów - „*The Role of Chemotherapy-induced Exosomes in Pancreatic Cancer*”, Kawthar Safi, Szkoła Doktorska WUM, oraz „*Badanie mechanizmów aktywności*”.



UNIwersytet Jagielloński
COLLEGIUM MEDICUM
W KRAKOWIE

Wydział Farmaceutyczny

cytotoksycznej pochodnych tiomocznika", mgr Paulina Strzyga, Katedra i Zakład Biochemii WUM.

Podkreślić należy również aktywną działalność organizacyjną Pani dr n med. Alicji Chrzanowskiej, taką jak zaangażowanie w prace Izby Aptekarskiej, udział w pracach bazy ekspertów NAWA, udział w Komisji Egzaminacyjnej z biologii dla kandydatów na WUM, czy członkostwo w Komisji Socjalnej WUM.

W przypadku pracowników naukowych istotne jest również przekazywanie wiedzy w ramach popularyzacji nauki. Ta sfera aktywności jest również zauważalna u Habilitantki. Sprawowała Ona w latach 2004 – 2014 opiekę merytoryczną nad pracami badawczymi studentów z Japonii, Hiszpanii oraz Chorwacji w ramach Programu Erasmus/Socrates, jak również sprawowała opiekę nad studentami Koła Biochemicznego WUM.

Za szczególne zasługi dla Oświaty i Wychowania została wyróżniona Medalem Komisji Edukacji Narodowej.

W sferze aktywności naukowej, dydaktycznej i organizacyjnej Habilitantka była wielokrotnie nagradzana. Jest laureatką 10 Nagród Naukowych JM Rektora Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego (2004, 2005, 2007, 2009, 2011, 2020, 2021, 2022.). Jest również laureatką nagród specjalnych, uzyskanych na X oraz XI Kongresie Naukowym Młodych Medyków (Warszawa maj 2014 i maj 2015).

Wniosek końcowy

Mając na uwadze wartość przedstawionego osiągnięcia naukowego, jak również całokształt aktywności naukowej, umiejętności prowadzenia badań i współpracy, znaczącą aktywność dydaktyczną i organizacyjną mogę stwierdzić, iż Pani dr n. med. Alicja Chrzanowska spełnia uznane kryteria dla kandydatów ubiegających się o stopień naukowy doktora habilitowanego. Prowadzone badania



UNIwersytet Jagielloński
COLLEGIUM MEDICUM
W KRAKOWIE

Wydział Farmaceutyczny

i publikowane wyniki stanowią oryginalny i istotny wkład w rozwój nauk medycznych. Przedstawiony cykl prac składający się na główne osiągnięcie Habilitantki, Jej działalność naukowo-badawcza, dydaktyczna oraz organizacyjna spełnia ustawowe wymagania, stawiane kandydatom do stopnia naukowego doktora habilitowanego (art. 219 Ustawy z dn. 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce, Dz. U. 2020 r., poz. 85 z póź. Zm.).

Z pełnym przekonaniem popieram Jej wniosek o nadanie stopnia doktora habilitowanego w **dziedzinie nauk medycznych i nauk o zdrowiu, dyscyplina nauki medyczne.**

Wnioskuję do **Rady Dyscypliny Nauk Medycznych**, Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego o dopuszczenie dr n. med. Alicji Chrzanowskiej do dalszych etapów postępowania habilitacyjnego.

dr hab. n. farm. Tadeusz Librowski