

prof. dr hab. n. med. Grzegorz Kurzawski

Szczecin, 26.11.2023 roku



Ocena dorobku naukowego

Wywiązując się z obowiązku recenzenta powierzonego mi decyzją Rady Dyscypliny Nauk Medycznych Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego w postępowaniu habilitacyjnym Pani dr n. med. Alicji Chrzanowskiej, ubiegającej się o stopień doktora habilitowanego w dziedzinie nauk medycznych i nauk o zdrowiu, dyscyplina nauki medyczne, przedstawiam ocenę jej osiągnięć naukowych.

Pani dr n. med. Alicja Chrzanowska ukończyła studia na Wydziale Farmaceutycznym Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego i uzyskała tytuł magistra farmacji po obronie pracy magisterskiej z wynikiem bardzo dobrym w 2000 roku. W tym samym roku podjęła pracę w charakterze asystenta naukowo-dydaktycznego w Katedrze i Zakładzie Biochemii I Wydziału Lekarskiego Akademii Medycznej w Warszawie. Działalność naukowa Habilitantki była początkowo związana z badaniami dotyczącymi aktywności arginazy u pacjentów onkologicznych, prowadzonymi pod kierunkiem Pani profesor Zofii Porębskiej, we współpracy z dr Grzegorzem Luboińskim z Kliniki Chirurgii Onkologicznej Centrum Onkologii w Warszawie. Współpraca z Kliniką i opanowanie technik, takich jak badanie aktywności enzymatycznej, chromatografia jonowymienna, Western – blot, PCR, pozwoliło na uzyskanie wyników mających znaczenie w obszarze badań medycznych, o czym mogą świadczyć pierwsze publikacje z tego okresu. **Całkowity dorobek dr Chrzanowskiej przed uzyskaniem stopnia doktora** obejmuje 9 publikacji oryginalnych i 2 prace poglądowe, a także 15 komunikatów prezentowanych na krajowych i międzynarodowych konferencjach naukowych. Całkowity IF artykułów opublikowanych przed obroną pracy doktorskiej wynosił 5,247, a ich wartość odpowiadała 109 punktom MEiN.

1. *Uzyskanie stopnia naukowego doktora (dotyczy spełnienie warunku ustawy „Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce” - art. 219 ust. 1 pkt. 1)*

W 2008 roku Kandydatka obroniła z wyróżnieniem pracę doktorską pt. „Zmiany aktywności i ekspresji arginazy w marskości i pierwotnym raku wątroby”, której promotorem była Prof. dr hab. Anna Barańczyk-Kuźma, co przyczyniło się do awansowania Kandydatki na stanowisko adiunkta naukowo-dydaktycznego, na którym to pracuje (z krótką przerwą) do dzisiaj.

Za swoją pracę naukową była wielokrotnie nagradzana, między innymi, otrzymała 10 Nagród Naukowych JM Rektora Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego w latach 2004-2022 oraz 3 nagrody na konferencjach naukowych (Warsaw International Medical Congress for young scientists) w 2014 i 2015 roku.

2. *Ocena cyklu powiązanych tematycznie publikacji (dotyczy spełnienie warunku ustawy „Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce” - art. 219 ust. 1 pkt. 2)*

Jako osiągnięcie naukowe Pani dr n. med. Alicja Chrzanowska przedstawiła cykl prac zatytułowany „Ocena potencjału cytotoksycznego nowych koniugatów fluorochinolonów z kwasami tłuszczowymi oraz ich wpływu na metabolizm komórek nowotworowych i bakteryjnych”, złożony z 4 oryginalnych pełnotekstowych, powiązanych tematycznie publikacji, które ukazały się w latach 2020-2023 w anglojęzycznych indeksowanych czasopismach o zasięgu międzynarodowym o łącznym IF wynoszącym 24,492 i łącznej punktacji MEiN wynoszącej 520 punktów.

W oparciu o dostępne dane dotyczące własności antybakteryjnych fluorochinolonów, a także ich obserwowanej cytotoksyczności wobec komórek nowotworowych, Habilitantka podjęła próbę weryfikacji tezy, że wzbogacenie cząsteczek dwóch fluorchinolonów: cyprofloksacyny (II generacja) i moksyfloksacyny (IV generacja) o reszty kwasów tłuszczowych o różnej długości łańcucha oraz liczbie i położeniu wiązań podwójnych, mogłoby doprowadzić do uzyskania substancji o zwiększonej aktywności przeciwbakteryjnej i przeciwnowotworowej. W tym celu przebadła specjalnie zsyntetyzowane koniugaty (amidy), a wyniki opisała w cyklu prac, który zaproponowała jako osiągnięcie naukowe mające spełnić warunek ustawowy (Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce - art. 219 ust. 1 pkt. 2).

Cykl prac zawiera następujące publikacje:

1. 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. IF = 6,514; Punkty MEiN = 140; kwartyle Q1

<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0223523419309626?via%3Dihub>

2. 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. IF = 6,575; Punkty MEiN = 140; kwartyle Q1

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8773529/>

3. Chrzanowska A, Struga M, Roszkowski P, Koliński M, Kmiecik S, Jałbrzykowska K, Zabost A, Augustynowicz-Kopeć 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. IF = 6,208; Punkty MEiN = 140; kwartyle Q1

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC9181188/>

4. 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. IF = 5,195; Punkty MEiN = 100; kwartyle Q1

<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0014299922007427?via%3Dihub>

We wszystkich pracach dr Chrzanowska była pierwszym autorem i w każdej z nich uczestniczyła w niemal wszystkich etapach badań, od opracowania pomysłu badania, hodowli komórkowej, wykonywania oznaczeń w części eksperymentalnej, analizie statystycznej wyników, zebrania i interpretacji piśmiennictwa, aż do przygotowywania pierwotnej i ostatecznej wersji manuskryptu. Swoją udział w pierwszej, drugiej i czwartej pracy oszacowała na 70%, a w trzeciej - na 60%.

Celem pierwszej pracy było wytworzenie koniugatów cyprofloksacyny z nasyconymi i nienasyconymi kwasami tłuszczowymi oraz ocena ich cytotoksyczności, działania indukującego apoptozę i hamowania uwalniania IL-6 w liniach komórkowych pierwotnego i przerzutowego ludzkiego raka okrężnicy, przerzutowego raka prostaty, a także linii komórek prawidłowych. Dodatkowo wszystkie badane związki, (dziewięć nowo zsyntetyzowanych koniugatów cyprofloksacyny), zbadano pod kątem ich aktywności przeciwdrobnoustrojowej.

Otrzymano szereg nowych dotąd nie publikowanych rezultatów. Wykazano, że komórki raka prostaty są bardziej podatne na działanie testowanych koniugatów niż pierwotne i przerzutowe komórki raka jelita grubego. Koniugaty nie były toksyczne dla prawidłowych komórek w stężeniach potencjalnie terapeutycznych. Jednocześnie wykazywały własności cytotoksyczne wobec komórek nowotworowych i działanie przeciwdrobnoustrojowe. Niezwykle cenne jest też wskazanie najbardziej aktywnych amidów z nienasyconymi kwasami, takimi jak sorbowy, oleinowy i elaidynowy, które wykazywały najsilniejsze działanie cytotoksyczne, proapoptyczne i redukujące wydzielanie IL-6, co może budzić nadzieje na uzyskanie tą drogą nowych leków, silniej hamujących wzrost i inwazyjność niektórych nowotworów.

Celem drugiej pracy było przebadanie wpływ koniugatów cyprofloksacyny na komórki raka prostaty (linie LNCaP i DU-145) o różnej wrażliwości na hormony, a także na linię komórek prawidłowych nabłonka prostaty (RWPE-1). Dodatkowo sprawdzono ich wpływ na metabolizm lipidów w liniach komórek nowotworowych PC3 i prawidłowych RWPE-1, poprzez określenie względnej zawartości wybranych białek za pomocą spektrometrii mas. Wykazano, że niewrażliwe na hormony komórki DU-145 były bardziej podatne na działanie koniugatów niż hormonozależne komórki LNCaP. Działanie cytotoksyczne nieskoniugowanej cyprofloksacyny i kwasów tłuszczowych było słabsze. W komórkach linii LNCaP potraktowanych koniugatami dominowała wczesna apoptoza, natomiast w komórkach DU-145 indukowana była zarówno wczesna, jak i późna apoptoza. Badane koniugaty zmniejszały uwalnianie IL-6 w obu liniach komórek nowotworowych o prawie 50%. Analiza proteomiczna wykazała wpływ koniugatów cyprofloksacyny na białka biorące udział w metabolizmie lipidów, powodując przeważnie obniżenie stężenia białek ważnych w progresji raka prostaty, co sugerowało, że ich potencjał cytotoksyczny był z tym powiązany. Moim zdaniem takie wyniki i ważne wnioski, wskazujące, że optymalną kombinacją jest koniugacja cyprofloksacyny z kwasem oleinowym i kwasem elaidynowym, otwierają perspektywy ich potencjalnego zastosowania w leczeniu, szczególnie niewrażliwych na hormony raków prostaty, w przypadku których brak jest jak dotąd skutecznych leków. Jednocześnie zgadzam się z opinią Habilitantki, że wyniki badań in vitro mogą nie w pełni przełożyć się na aktywność w nowotworze, co stanowi istotną przeszkodę w pełnej ocenie działania koniugatów na komórki nowotworowe in vivo.

Celem trzeciej pracy było zbadanie wpływu koniugacji cyprofloksacyny i moksyfloksacyny z kwasami tłuszczowymi na ich działanie przeciwbakteryjne i przeciwnowotworowe. Uzyskane wyniki potwierdziły przewagę formy skoniugowanej moksyfloksacyny, a nowo zsyntetyzowane

koniugaty były selektywnie silnie cytotoksyczne wobec testowanych linii nowotworowych, z wyróżnieniem komórek raka prostaty (PC3), które podobnie jak w przypadku cyprofloksacyny były bardziej podatne na ich działanie. Wśród przebadanych kwasów tłuszczowych powiązanych z moksyflokscyną, najskuteczniejszymi okazały się kwasy sorbowy, oleinowy, hept-6-enowy, linolowy, kaprylowy i stearynowy. Najsilniejsze działanie przeciwbakteryjne wobec standardowych szczepów wykazywały natomiast pochodne kwasów o długości łańcucha nie dłuższym niż 6 węgli. Najsilniej działającą wobec szczepów klinicznych była pochodna acetylowa. Niektóre koniugaty, pochodzące od średnio- i długolańcuchowych kwasów wielonienasyconych obydwu chinolonów, działały silniej przeciwpłatkowo niż referencyjne tuberkulostatyki. Natomiast ustalenia dotyczące badań mechanizmów działania antybakteryjnego wskazały jednoznacznie na potrzebę ich rozszerzenia, poza badania dotyczące hamowania kluczowych enzymów bakteryjnych: gyrazy DNA i topoiizomerazy IV, które nie tłumaczyły wszystkich otrzymanych wyników.

Celem czwartej pracy było ustalenie mechanizmów działania przeciwnowotworowego wyselekcjonowanych, najbardziej aktywnych koniugatów moksyflokscacyny oraz zbadanie ich wpływu na profil metaboliczny w komórkach nowotworu jelita grubego i prostaty. Badania potwierdziły silny potencjał cytotoksyczny koniugatów moksyflokscacyny, który był dużo wyższy niż wolnej formy fluorochinolonu, a jednocześnie oceniane amidy pozostawały bezpieczne dla prawidłowych komórek HaCaT. Komórki raka prostaty PC3 były bardziej wrażliwe na koniugaty cyprofloksacyny niż komórki raka okrężnicy. Najbardziej obiecującą aktywność cytotoksyczną wykazywały koniugaty z kwasem oleinowym i stearynowym, które nie tylko skutecznie zmniejszały żywotność przerzutowych komórek PC3 i SW620, ale również silnie indukowały w tym typie komórek kaspazy wykonawcze (3/7 aktywujące tzw. „substraty śmierci”) i późną apoptozę.

Cykl prac których liderem była habilitantka (co potwierdza pierwsze autorstwo we wszystkich publikacjach oraz uczestnictwo w niemal wszystkich etapach ich przygotowywania), dostarczył nowych i bardzo ważnych danych na temat potencjału cytotoksycznego nowych koniugatów fluorochinolonów z kwasami tłuszczowymi oraz ich wpływu na metabolizm komórek nowotworowych i bakteryjnych. W związku z powyższym, zostały w pełni zrealizowane cele tego dużego interdyscyplinarnego przeciwzwiązania, łączącego kompetencje kilku zespołów badawczych. Sukces ten wytyczył też dalszy kierunek poszukiwań potencjalnych substancji leczniczych zwłaszcza wobec chorych z zaawansowaną postacią nowotworu prostaty i dalszych badań nad metabolizmem lipidów w komórkach bakteryjnych. **Przedstawiony do oceny cykl prac stanowi więc, w mojej ocenie, oryginalne osiągnięcie**

wnoszące istotny wkład w dziedzinie nauk medycznych i nauk o zdrowiu w dyscyplinie nauki medyczne.

3. *Aktywność naukowa realizowana na różnych uczelniach i instytucjach naukowych, w szczególności zagraniczna. (dotyczy spełnienia warunku ustawy „Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce” - art. 219 ust. 1 pkt. 3*

W przebiegu kariery zawodowej Pani dr n. med. Alicja Chrzanowska nawiązywała kontakty i współpracowała z wieloma naukowcami z różnych ośrodków, w tym z zagranicy, co szczegółowo opisała w autoreferacie i co znajduje odzwierciedlenie postaci wspólnych publikacji. Do najważniejszych aktywności w tym względzie, ponieważ ich rezultatem były nowatorskie publikacje o zasięgu międzynarodowym, zaliczyłbym współpracę z:

- dr hab. Piotrem Roszkowskim w zakresie syntez zmodyfikowanych związków bioaktywnych z Pracowni Chemii Związków Naturalnych Wydziału Chemii Uniwersytetu Warszawskiego;*
- prof. dr hab. Nadejda Drelą, dr Ewelina Kiernożek w zakresie badań z użyciem cytometrii przepływowej z Zakładu Immunologii Uniwersytetu Warszawskiego;*
- prof. dr hab. Ewa Augustynowicz-Kopeć, dr Agnieszka Napiórkowską w zakresie określenia aktywności przeciwgruźliczej z Zakładu Mikrobiologii Instytutu Gruźlicy i Chorób Płuc w Warszawie;*
- dr hab. Sebastianem Kmiecikiem z Pracowni Teorii Biopolimerów Wydziału Chemii Uniwersytetu Warszawskiego oraz dr Michałem Kolińskim z Instytutu Medycyny Doświadczalnej i Klinicznej im. M. Mossakowskiego PAN w zakresie modelowania molekularnego pochodnych cyprofloksacyny i moksyfloksacyny do białek enzymatycznych;*
- dr Pawłem Rejmakiem i dr Aleksandrą Drzewiecką w zakresie badań spektroskopowych i obliczeń kwantowo-mechanicznych kompleksowych pochodnych tiomocznika z Instytutu Fizyki PAN w Warszawie.*

Habilitantka współpracowała też z ośrodkami zagranicznymi, między innymi z:

- Dipartimento di Scienze Biomediche, Sezione di Microbiologia e Virologia, Università degli Studi di Cagliari, Monserrato, Włochy; Prof. Paolo La Colla, dr Gabriele Giliberti, dr Giuseppina Sanna – w zakresie określenia aktywności przeciwproliferacyjnej i przeciwwirusowej pochodnych tiomocznika*
- Molecular Epidemiology Laboratory Centre for Prevention, Diagnosis and Detection (CPDD). Cancer Prevention Unit (CPU) Wolfson Institute of Population Health; dr*

Belinda Nedjai, dr Dorota Ścibior - w ramach badań molekularnych nad rakiem prostaty oraz opracowania szybkiego testu do oznaczania aktywności arginazy.

Podsumowując stwierdzam, że Kandydatka wykazała się istotną aktywnością naukową realizowaną w więcej niż jednej uczelni.

4. Całkowity dorobek naukowy Kandydatki

Całkowity dorobek naukowy Pani dr n. med. Alicji Chrzanowskiej według analizy bibliometrycznej w podpisanej przez Kierownika Oddziału Informacji Naukowej Biblioteki WUM mgr Annę Adjukiewicz-Tarkowską dniu 2.03.2023 obejmował: 30 oryginalnych, pełnotekstowych prac naukowych, w tym 20 w czasopismach z IF (21 po uzyskaniu stopnia naukowego doktora); z czego 11 jako pierwszy/korespondencyjny autor oraz 5 prac poglądowych, w tym 3 w czasopismach z IF (3 po uzyskaniu stopnia naukowego doktora). Ponadto w skład dorobku wchodzi 19 doniesień/komunikatów na zjazdach międzynarodowych lub krajowych, z czego 11 jako pierwszy autor (streszczenia prezentowane w formie plakatu lub prezentacji ustnej).

Sumaryczny Impact Factor wszystkich publikacji Habilitantki wg listy Journal Citation Reports JCR zgodnie z rokiem opublikowania wynosił 94,058 i dotyczył 23 prac, co świadczy o wysokiej jakości publikowanych badań (wartość 1997 według punktacji MEiN). Liczba cytowań (odpowiednio wg baz Web of Science/Scopus) bez autocytowań wynosiła 313/372, a indeks Hirscha – 10, co świadczy o dużym zainteresowaniu jej pracami wśród innych badaczy.

Takie parametry naukometryczne niezwykle pozytywnie wyróżniają Kandydatkę z pośród osób ubiegających się o stopień dr habilitowanego.

5. Podsumowanie oceny

W podsumowaniu oceny dorobku naukowego Pani dr n. med. Alicji Chrzanowskiej pragnę stwierdzić, że Kandydatka jest niezwykle dociekliwym, skrupulatnym i twórczym badaczem o poważnym wkładzie publikacyjnym, która jednocześnie tworzy i wykorzystuje potencjał naukowy nowoczesnej uczelni. Jej osiągnięcia naukowe z nadmiarem spełniają wymogi stawiane osobom ubiegającym się o uzyskanie stopnia naukowego doktora habilitowanego i w pełni odpowiadają wymaganiom określonym w art. 219 ust. 1 pkt.1, 2 i 3 ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 2018 r. poz. 1668 z póź. zm.).

W związku z powyższym, zwracam się z gorącą prośbą do Komisji Habilitacyjnej i Wysokiej Rady Dyscypliny Nauk Medycznych Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego o nadanie Pani dr n. med. Alicji Chrzanowskiej stopnia naukowego doktora habilitowanego w dziedzinie nauk medycznych i nauk o zdrowiu w dyscyplinie nauki medyczne.

Szczecin, 26.11.2023

prof. dr hab. n. med. Grzegorz Kurzawski