

Prof. dr hab. Czesław Wawrzeńczyk
Katedra Chemii
Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu

Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu	
DZIEKANAT WYDZIAŁU LEKARSKIEGO	
wpl. dnia	20-08-2019
L.dz. DL/ Znak sprawy DL	2738/19

Wrocław, 14.08.2019

Ocena

dorobku naukowego, osiągnięcia habilitacyjnego oraz dokonań w działalności dydaktycznej i organizacyjnej dr inż. Anny Choromańskiej

Pani dr inż. Anna Choromańska ukończyła w 2007 roku studia na Wydziale Biotechnologii i Nauk o Żywności Uniwersytetu Przyrodniczego we Wrocławiu, kierunku Biotechnologia. W latach 2007-2008 odbyła na Uniwersytecie Przyrodniczym we Wrocławiu studia podyplomowe „Systemy zarządzania jakością i bezpieczeństwem żywności” uzyskując certyfikat Asystenta Systemu Zarządzania Jakością. W latach 2008-2013 była doktorantką na Wydziale Lekarskim Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu. Pracę doktorską wykonywała w Katedrze i Zakładzie Biochemii Lekarskiej tego Uniwersytetu pod opieką naukową prof. Jolanty Saczko. W trakcie studiów doktoranckich odbyła dwa krótkoterminowe staże naukowe: jeden w Zakładzie Immunologii Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego (od 01.01.2010 do 31.03.2010 r.) i drugi w Laboratory of Vectrology and Anticancer Therapies Institute Gustave – Roussy, Francja (od 15.04.2010 do 15.07.2010 r.)

Dr. Anna Choromańska rozpoczęła w 2013 r. pracę w Katedrze i Zakładzie Biochemii Lekarskiej Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu, najpierw na stanowisku specjalisty w grupie naukowo – technicznej, a następnie, od 2014 do teraz, na stanowisku adiunkta naukowo – dydaktycznego.

1. Działalność naukowo – badawcza

1.1. Aktywność badawcza

Zainteresowania naukowe dr. Anny Choromańskiej są umiejscowione w obszarze badawczym biologii medycznej i są związane z poszukiwaniem nowych substancji i preparatów o aktywności cytotoksycznej w stosunku do komórek nowotworowych, które mogłyby być stosowane w terapii nowotworowej. Przeprowadzone i prowadzone aktualnie przez Habilitantkę badania obejmują nie tylko testy cytotoksyczności, ale również badania transportu cytostatyku do wnętrza komórki oraz badania mechanizmów i procesów unieszkodliwiania komórek nowotworowych, głównie procesów apoptozy.

W pierwszym okresie badawczym, po podjęciu studiów doktoranckich, celem prowadzonych prac była ocena przydatności terapii fotodynamicznej w leczeniu nowotworów skóry, w warunkach *in vitro*. Badania przeprowadzono na dwóch ludzkich liniach komórkowych czerniaka: MEWO, które zawierały melaninę i C32, które nie zawierały melaniny oraz ludzkiej linii prawidłowej keratynocytów (HaCaT). Fotouczulaczem zastosowanym w badaniach był dimer hematoporfiryny („Photofrin”), powszechnie stosowany w leczeniu klinicznym nowotworów metodą fotodynamiczną. Kandydatka do stopnia doktora habilitowanego prowadziła badania cytotoksyczności „klasyczną” metodą fotodynamiczną oraz metodą ze wspomaganie elektroporacją. Porównanie skuteczności i zwiększenie procentowe komórek apoptycznych wskazało na metodę z elektroporacją jako bardziej skuteczną. Badania wykazały również, że śmierć komórek nowotworowych następuje w wyniku ich apoptozy. Uzyskane w przedstawionych powyżej badaniach wyniki zostały zamieszczone w dysertacji doktorskiej pt. *„Porównanie wpływu czynników reakcji fotodynamicznej na linie komórkowe ludzkiego czerniaka”* oraz w 8 pracach naukowych, z których 3 zostały zamieszczone w czasopiśmie z listy JCR.

Równolegle z realizacją celów badawczych swojej pracy doktorskiej dr A. Choromańska brała udział w realizacji innych projektów badawczych. Z bardziej interesujących trzeba tu wymienić próby zastosowania cyjanin jako fotouczulaczy w metodzie fotodynamicznej. Habilitantka wykazuje dużą podatność na współpracę z badaczami z innych zespołów. W ramach współpracy z zespołem prof. M. Kotulskiej z Katedry Inżynierii Biomedycznej i Pomiarowej Politechniki Wrocławskiej brała udział w badaniach nad wpływem elektroporacji na morfologię komórek prawidłowych i nowotworowych. Badania pokazały, że elektroporacja powoduje zmiany w błonach komórkowych i indukuje w niewielkim stopniu apoptotyczną i nekrotyczną śmierć komórek. Habilitantka uczestniczyła również w projekcie badawczym *„Nanokapsułowanie farmaceutyków”* prowadzonym przez Centrum Badań EIT+. W ramach tego projektu współpracowała z zespołem prof. K. Wilk z Politechniki Wrocławskiej. Badała aktywność cytotoksyczną nanokapsułowanych fotouczulaczy z grupy cyjanin. Micele polimerowe zawierające ftalocyjaninę cynkową okazały się dobrymi nośnikami hydrofobowych fotouczulaczy.

Dr Anna Choromańska po uzyskaniu stopnia doktora znacznie poszerzyła zakres prowadzonych badań. Kontynuując pracę w temacie zastosowania elektrochemioterapii do zwiększania efektywności działania znanych cytostatyków poprzez wspomaganie jej elektroporacją rozpoczęła poszukiwania nowych cytostatyków pochodzenia naturalnego. Jest to kierunek badawczy, który popieram w całej rozciągłości. Istnieje bowiem nadzieja, że

naturalne cytostatyki będą spełniały marzenia badaczy oraz chorych na nowotwory, że będą one cytotoksyczne na komórki nowotworowe bez negatywnego działania na zdrowe. Udział cytostatyków naturalnych w leczeniu chorób nowotworowych jest wciąż niewielki. Szersze zastosowanie znalazły tylko dwa alkaloidy: taksol wyizolowany z kory cisa krótkolistnego i winkrystyna wyizolowana z barwinka różowego.

Ostatnie badania pokazują, że niektóre związki o budowie izoprenoidowej jak kwasy geranylowy, farnezylowy, dehydroepiandrosteron (DHEA) czy też triterpen betulina i kwas betulinowy, a także ich peptydowe i fosfatydyłowe pochodne dają nadzieję na włączenie ich do puli stosowanych chemioterapeutyków. Interesującym wynikiem jest to, że jakkolwiek np. fosfatydyłowe pochodne betuliny czy DHEA są mniej cytotoksyczne w stosunku do komórek nowotworowych niż wyjściowe izoprenoidy to są one całkowicie nieaktywne w stosunku do komórek prawidłowych.

Dr A. Choromańska włączyła się aktywnie w badania cytootoksyczności naturalnych związków i ich pochodnych. Badała m.in. aktywność gingerolu izolowanego z imbiru, estru fenetylowego kwasu kawowego izolowanego z propolisu czy też betuliny i kwasu betulinowego izolowanych z kory brzozy oraz ich estrowych pochodnych. Szczególnym zainteresowaniem Habilitantka obdarzyła grupę polisacharydów, β -glukanów izolowanych z owsa. To zainteresowanie jest w pełni zrozumiałe gdyż są one, szczególnie te z owsa, prozdrowotnymi składnikami żywności o wielorakich korzystnych dla zdrowia właściwościach. Wśród tych właściwości wymienia się: zdolność obniżania poziomu cholesterolu, współdziałania przy zwalczaniu otyłości, leczeniu owrzodzeń układu pokarmowego oraz korzystne współdziałanie w leczeniu cukrzycy. Ziarna owsa stały się więc cennym surowcem do produkcji żywności funkcjonalnej oraz suplementów diety.

Dr A. Choromańska podjęła temat oceny aktywności cytotoksycznej β -glukanów z owsa w stosunku do komórek nowotworowych. Wyniki uzyskane z tych badań przedstawiła jako jej osiągnięcie habilitacyjne pt. *„Ocena przeciwnowotworowych właściwości β -glukanu z owsa siewnego oraz kombinacji z elekroporacją na modelu in vitro”*.

1.2. Ocena naukowego osiągnięcia habilitacyjnego

Habilitacyjne osiągnięcie naukowe dr Anny Choromańskiej stanowią 4 oryginalne prace doświadczalne w których zawarte są wyniki badań aktywności cytotoksycznej β -glukanu z owsa siewnego w stosunku do komórek nowotworowych. W trzech pracach 4.1, 4.2, 4.4 zaprezentowane są wyniki badań prowadzonych na dwóch liniach ludzkich komórek

nowotworów skóry: linii czerniaka złośliwego (Me45) i raka kolczystokomórkowego (A431), a praca 4.3 przedstawia wyniki badań aktywności na dwóch liniach nowotworów płuc: niedrobnokomórkowego raka płuc (A549) i wielolekooporneo raka płuc (H69AR).

W publikacji 4.1 badania cytotoxycznosci prowadzono rowniez na komorkach prawidlowych: linii ludzkich komorek keratynocytow (HaCaT) oraz mysich mikroflagow (P388/D1). Badaniom zostal poddany niskozasteczkowy β -glukan. Wykazal on cytotoxyczny efekt wobec obu linii nowotworowych i okazal sie nieaktywny w stosunku do komorek prawidlowych. W badaniach oznaczono rowniez ekspresje bialka kaspazy-12, ktora uruchamia procesy apoptozy. Byla ona silna w komorkach nowotworowych i stosunkowo niewielka w komorkach prawidlowych.

W pracy 4.2 zaprezentowane sa wyniki badan cytotoxycznosci niskozasteczkowego β -glukanu z owsa w stosunku do linii komorek czerniaka zlośliwego. Testy prowadzono przy wspomaganiu elektroporacja. Wyniki uzyskane z testow wskazyly jednoznacznie, ze elektroporacja zwiksza potencjal cytotoxyczny β -glukanu.

Celem badan zaprezentowanych w pracy 4.4 bylo ustalenie roli glukozyowego transportera GLUT-1 w dostarczaniu β -glukanu do wnetrza komorek nowotworowych czerniaka Me45 i MeWo. Uzyskane wyniki potwierdzily robocza teze, ze β -glukan jest dostarczany do komorek nowotworowych przez transporter GLUT-1. Zastosowanie elektroporacji przy podawaniu β -glukanu zmniejsza jednak role tego sposobu transportu. Wyniki przezywalnosc komorek uzyskane z eksperymentu, w ktorym stosowano inhibitor biosyntezy transportera i elektroporacje wskazuja, ze ta zmodyfikowana metoda podawania cytostatyku moze byc skutecznie stosowana w terapii nowotworowej.

W publikacji 4.3 zaprezentowane sa wyniki badan cytotoxycznosci niski- i wysokozasteczkowego β -glukanu z owsa siewnego w stosunku do dwuch linii komorek nowotworowych raka pluc oraz w stosunku do ludzkich komorek prawidlowych (HaCaT). Habilitantka badala ponadto proces utleniania lipidow oznaczajac stezenie koncowego produktu tego procesu aldehydu malonowego. Oceniala rowniez wplyw β -glukanu na hemolize czerwonych ciulek krwi. Ocena przezywalnosc komorek wskazala, ze testowane β -glukany nie byly cytotoxyczne w stosunku do komorek prawidlowych i toksyczne w stosunku do nowotworowych, przy czym wysokozasteczkowy β -glukan byl bardziej cytotoxyczny. Ten sam β -glukan powodowal bardziej efektywna peroksydacje lipidow. Wysokozasteczkowy β -glukan wykazal rowniez silniejsze dzialanie ochronne w stosunku do ludzkich czerwonych ciulek krwi przed hemoliza niz β -glukan niskozasteczkowy. Autorka

tłumaczy to bardziej efektywnym oddziaływaniem z błoną komórkową erytrocytów i ich sieciowaniem.

Analiza wyników przedstawionych przez dr Annę Choromańską jako naukowe osiągnięcie habilitacyjne pozwala mi stwierdzić, że są one wartościowe tak pod względem poznawczym jak i pod kątem ich przydatności w terapii przeciwnowotworowej. Do najważniejszych wyników o charakterze poznawczym zaliczam ustalenie, że β -glukan z owsa siewnego wykazuje aktywność cytotoksyczną nie tylko w stosunku do komórek nowotworów skóry, ale również w stosunku do komórek nowotworów płuc, a sądzę że i w stosunku do innych nowotworów. Do tej grupy wyników należy również zaliczyć ustalenie, że β -glukan jest transportowany do wnętrza komórek przez błonowy transporter białkowy GLUT-1 oraz, że β -glukan owsa działa ochronnie na ludzkie eryocyty. Wynikiem o znaczeniu praktycznym jest według mnie wskazanie, że metoda stosowania β -glukanu wspomagana elektroporacją i stosowanie inhibitora biosyntezy transportera GLUT-1 znacznie zwiększa efekt cytotoksyczny.

O dużej wartości naukowej wyników osiągnięcia habilitacyjnego dr A. Choromańskiej świadczy ranga czasopism, w których zostały one opublikowane. Wszystkie prace zostały zamieszczone w czasopismach z listy JCR, a dwie z nich w renomowanych periodykach o IF większych od 3,0. Łączny IF prac stanowiących osiągnięcie wynosi 9.393. Chciałbym podkreślić, że w wieloautorskich publikacjach osiągnięcia Habilitantka jest pierwszym i również korespondencyjnym autorem. Swój udział w powstaniu tych prac oceniła na 70% (3 prace) i 60%. Tak wysokie udziały znajdują potwierdzenie w oświadczeniach współautorów, którzy przypisują sobie od 5 do 15% udziału.

Oceniając prezentację tych wyników w Autoreferacie stwierdzam, że jest ona napisana dobrym i zrozumiałym językiem. Jedyna uwaga ma charakter nomenklaturowy: jest aldehyd malonowy a nie malonyłowy.

Podsumowując moją ocenę wyników przedstawionych do oceny jako osiągnięcie habilitacyjne stwierdzam, że są one oryginalne i wartościowe naukowo. Uznaję więc, że naukowe osiągnięcie habilitacyjne dr Anny Choromańskiej spełnia standardy tego typu dokonań i wymogi stawiane przez Ustawę o stopniach i tytule naukowym.

1.3 Ocena osiągnięć w działalności naukowo – badawczej

Na dorobek naukowy dr Anny Choromańskiej składa się 25 publikacji (15 po uzyskaniu stopnia doktora) zamieszczonych w czasopismach z listy JCR, w tym 1 artykuł

przeładowy (zgodnie z danymi biblioteki UM) oraz 6 (1 po doktoracie) publikacji zamieszczonych w recenzowanych czasopismach spoza lisy JCR. Dorobek ten uzupełnia 7 (3 po doktoracie) rozdziałów w monografiach i 6 (4 po doktoracie) publikacje w materiałach konferencyjnych. Kandydatka do stopnia doktora habilitowanego prezentowała swoje wyniki także na konferencjach międzynarodowych i krajowych. Wygłosiła 6 referatów i komunikatów konferencyjnych. Wyniki przedstawiała również w postaci prezentacji posterowych na konferencjach międzynarodowych (87) i krajowych (36).

Oceniając ten dorobek ilościowo trzeba powiedzieć, że jest on typowy dla kandydatów do stopnia naukowego doktora habilitowanego w naukach eksperymentalnych. Trzeba jednak zaznaczyć, że dr A. Chromańska pracuje naukowo dopiero 11 lat wliczając w to staże, studia doktoranckie i sędzę, że urlopy macierzyńskie. Chciałbym również podkreślić, że po uzyskaniu stopnia doktora znacznie powiększyła swój dorobek. O wartości naukowej opublikowanych prac świadczy nie tylko sumaryczny IF (46,006) czasopism, w których zostały opublikowane, co przekłada się na 582 pkt MNiSW, ale także liczba 170 ich cytowań.

Podsumowując moją ocenę działalności naukowo-badawczej dr A. Choromańskiej stwierdzam, że badania prowadzone przez nią stoją na dobrym poziomie naukowym i dostarczają wartościowych wyników z zakresu badań aktywności cytotoksycznej w stosunku do komórek nowotworowych i które mogą w przyszłości być przydatne w terapii chorób nowotworowych. Dorobek naukowy, którym legitymuje się Habilitantka, moim zdaniem, w pełni uzasadnia Jej starania o uzyskanie stopnia doktora habilitowanego nauk medycznych.

2. Działalność dydaktyczna

Dokonania dr Anny Choromańskiej w działalności dydaktycznej są proporcjonalne do stażu pracy na stanowisku pracownika naukowo-dydaktycznego. Od 2009 roku, już jako doktorantka prowadzi zajęcia seminaryjne i laboratoryjne z biochemii dla studentów Wydziału Lekarskiego. Ponadto była promotorem 3 prac magisterskich i 1 inżynierskiej na kierunku biotechnologia Wydziału Chemicznego Politechniki Wrocławskiej oraz współ promotorem 2 prac magisterskich na kierunku Inżynieria Biomedyczna Wydziału Podstawowych Problemów Techniki Politechniki Wrocławskiej. Z tego zestawienia widać, że jest Ona „eksportowym” pracownikiem dydaktycznym Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu. Habilitantka była recenzentem 6 prac magisterskich i 3 inżynierskich na Wydziale Podstawowych Problemów Techniki Politechniki Wrocławskiej i Wydziale Farmaceutycznym Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu. Dr A. Choromańska

opiekowała się również, jako promotor pomocniczy, doktorantką realizującą pracę doktorską w macierzystej Katedrze.

3. Działalność organizacyjna

Dr A. Choromańska kierowała 5 projektami badawczymi. Wykazała się także dużą aktywnością w organizacji życia naukowego środowiska swojego Uniwersytetu i Wrocławia. Była współorganizatorem 2 Wrocławskich Spotkań Naukowych (2017, 2018) oraz 3 Seminariów i Warsztatów z Elektrochemioterapii (2009, 2016) i Elektroporacji (2016). Habilitantka była dwukrotnie (2016, 2017) współorganizatorką Dolnośląskiego Festiwalu Nauki, a także organizatorem szkoleń dla doktorantów i studentów w zakresie hodowli komórkowej i elektroporacji.

4. Podsumowanie oceny i wniosek końcowy

Przedstawiona powyżej ocena osiągnięć i dokonań dr Anny Choromańskiej pozwala mi na określenie Jej sylwetki. W mojej ocenie Habilitantka jest młodym, ambitnym i twórczym pracownikiem naukowym o ugruntowanej już pozycji w tematycznie z Nią związanym środowisku naukowym. O tej pozycji świadczy fakt, że Redaktorzy czołowych czasopism naukowych powierzyli jej recenzję (8) artykułów przesłanych do druku. O zaangażowaniu Habilitantki w prace badawcze i Jej inwencji twórczej świadczą także przedstawione w Autoreferacie plany badawcze na przyszłość.

Podsumowując moją ocenę dorobku naukowego, habilitacyjnego osiągnięcia naukowego pt. „*Ocena przeciwnowotworowych właściwości β -glukanu z owsa siewnego oraz jego kombinacji z elektroporacją na modelu *in vitro**” oraz dokonań w działalności dydaktycznej i organizacyjnej stwierdzam, że osiągnięcia dr inż. Anny Choromańskiej w tych trzech obszarach aktywności nauczyciela akademickiego są znaczące i spełniają wymogi stawiane kandydatom do uzyskania stopnia doktora habilitowanego przez Ustawę o stopniach naukowych i tytule naukowym. Będę więc na posiedzeniu Komisji Habilitacyjnej wnioskował o nadanie Jej stopnia doktora habilitowanego w dyscyplinie nauki medyczne.

Wawrzynek Czerwik

