

dr hab. n. med. Małgorzata Kapral
Katedra i Zakład Biochemii
Wydział Nauk Farmaceutycznych w Sosnowcu
Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach

Sosnowiec, 24.03.2023 r.

RECENZJA

dorobku naukowego, osiągnięcia naukowego oraz działalności dydaktycznej i organizacyjnej Pani dr n. farm. Aleksandry Majchrzak-Celińskiej, w związku z ubieganiem się o nadanie stopnia naukowego doktora habilitowanego w dziedzinie nauk medycznych i nauk o zdrowiu w dyscyplinie nauki farmaceutyczne

1. Dane biograficzne

Pani dr n. farm. Aleksandra Majchrzak-Celińska jest absolwentką Wydziału Farmaceutycznego Uniwersytetu Medycznego im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu, gdzie odbyła studia na kierunku *farmacja*. Dyplom magistra farmacji uzyskała w 2009 r. na podstawie pracy pt. „Analiza hipermetylacji metylotransferazy O⁶-metyloguaniny oraz delekcji 1p,19q w diagnostyce klinicznej nowotworów mózgu”. Promotorem tej pracy była prof. dr hab. Wanda Baer-Dubowska, a opiekunem merytorycznym prof. Peter Söderkvist z Uniwersytetu w Linköping w Szwecji, gdzie została wykonana część doświadczalna pracy. W 2009 roku Kandydatka otrzymała prawo wykonywania zawodu farmaceuty nadane przez Wielkopolską Okręgową Radę Aptekarską w Poznaniu.

Po ukończeniu studiów doktoranckich, w roku 2014 obroniła pracę doktorską z zakresu nauk farmaceutycznych, w specjalności biologia molekularna pt.: „Analiza metylacji wybranych genów w DNA guzów ośrodkowego układu nerwowego – poszukiwanie nowych markerów epigenetycznych” wykonaną pod kierunkiem Pani prof. dr hab. Wandy Baer-Dubowskiej. Od 2010 roku Pani Doktor jest pracownikiem Uniwersytetu Medycznego w Poznaniu, początkowo na stanowisku asystenta w Katedrze i Zakładzie Biochemii Farmaceutycznej Wydziału Farmaceutycznego, a w 2015 roku awansowała na stanowisko adiunkta, które zajmuje do chwili obecnej.

2. Ocena osiągnięcia naukowego zgłoszonego do postępowania habilitacyjnego

Osiągnięcie naukowe, stanowiące podstawę ubiegania się o uzyskanie stopnia naukowego doktora habilitowanego, pt.: „**Kanoniczny szlak Wnt jako źródło biomarkerów**

H. Kapral

i cel terapeutyczny w leczeniu glejaka wielopostaciowego” obejmuje cykl 6 monotematycznych oryginalnych prac naukowych opublikowanych w latach 2016-2022 w czasopismach o zasięgu międzynarodowym, tj. Journal of Applied Genetics (IF = 1,655), CNS Neuroscience & Therapeutics (IF = 5,243), BMC Cancer (IF = 4,638), International Journal of Molecular Sciences (IF = 6,208), Advances in Medical Sciences (IF = 2,852) oraz Cells (IF = 7,666). Łączny współczynnik oddziaływania Impact Factor tych publikacji wynosi 28,262, natomiast punktacja Ministerstwa Edukacji i Nauki wynosi 600. We wszystkich pracach Habilitantka jest pierwszym autorem, oraz co należy podkreślić autorem korespondencyjnym i przygotowała odpowiedzi na uwagi recenzentów. Osiągnięcie naukowe wskazuje na aktualność tematyki badawczej i jest dowodem, że dr n. farm. Alicja Majchrzak-Celińska odegrała wiodącą rolę w prowadzonych badaniach naukowych. Z przedstawionych oświadczeń Habilitantki i współautorów wynika, że dr Majchrzak-Celińska była autorką koncepcji badań oraz brała czynny udział w projektowaniu i wykonaniu eksperymentów, analizie i interpretacji wyników oraz przygotowaniu do druku manuskryptów.

Glejak wielopostaciowy mózgu (GBM) należy do najbardziej złośliwych nowotworów ośrodkowego układu nerwowego. Jego agresywność i złe rokowania wynikają z krótkiego czasu przeżycia chorego od momentu postawienia diagnozy, trudności w całkowitej resekcji guza oraz ograniczonej ilości leków stosowanych w terapii, a dodatkowo na taki stan wpływa powstająca oporność na dostępne chemoterapeutyki. W powstawaniu i progresji nowotworów istotną rolę odgrywają nieprawidłowe procesy komórkowe, w regulacji których bierze udział β -katenina i szlak Wnt oraz zmiany epigenetyczne. Dlatego badania podjęte przez Habilitantkę wydają się bardzo aktualne i celowe. Z jednej strony poszukiwano biomarkerów przydatnych w diagnostyce guzów glejowych mózgu, a z drugiej strony oceniono efekty przeciwnowotworowego działania wybranych związków syntetycznych i związków pochodzenia naturalnego na komórki glejaka mózgu. Zbadano w jaki sposób związki te wpływają m.in. na hamowanie działania kanonicznego szlaku Wnt w modelu *in vitro*.

Efektom przeprowadzonych przez Habilitantkę badań były następujące obserwacje i wnioski:

1. Analiza metylacji DNA genów kodujących białka antagonistyczne kanonicznego szlaku Wnt, tj. *SFRP1*, *SFRP2*, *DKK1*, *PPP2R2B*, *SOX17* oraz *DACHI* w wycinkach pooperacyjnych guzów mózgu szeregu astrocytarnego wykazała, że jest to częsta zmiana epigenetyczna w glejakach i może być przyczyną nadmiernej aktywacji ścieżki Wnt. Metylacja promotora genu *SFRP1* może być potencjalnym markerem

- diagnostyczny wskazującym guzy o wyższym stopniu złośliwości oraz wyznacznikiem złego rokowania i podjęciem bardziej radykalnej terapii.
2. Równoczesna analiza poziomu metylacji panelu siedmiu genów, obejmującego *SFRP1*, *SFRP2*, *RUNX3*, *CBLN4*, *INA*, *MGMT*, oraz *RASSF1A* może uzupełnić obecnie stosowaną diagnostykę guzów glejowych mózgu. Przeprowadzone badania potwierdziły, że metoda MS-HRM charakteryzuje się wysoką czułością (porównywalną z pirosekwencjonowaniem) i może być wykorzystana w diagnostyce klinicznej guzów mózgu.
 3. Przeprowadzone badania *in vitro* wpływu celekoksybu, 2,5-dimetylocelekoksybu (2,5-DMC), etorikoksybu, rofekoksybu oraz waldekoksybu na komórki GBM wykazały, że związki te w sposób zależny od dawki hamują ścieżkę Wnt oraz szlak COX-2/PGE2/EP4 przez co zmniejszają żywotność komórek GBM, obniżają liczbę komórek w fazie G0/G1 cyklu komórkowego i indukują proces apoptozy. Najsilniejszy efekt cytotoksyczny wykazano w przypadku komórek traktowanych 2,5-DMC i celekoksybem. Do badań wykorzystano komercyjnie dostępne linie komórkowe GBM, tj. A-172, T98G i U-138 MG oraz dwie linie (P1 i P6) wyprowadzone od chorych na glejaka mózgu. Wyniki wskazują, że efekt działania koksybów uzależniony był również od użytej linii komórkowej. Ponadto wykazano, że wpływ analizowanych związków w testowanym zakresie stężeń (1-100 μM) nie jest uzależniony od poziomu metylacji genu *MGMT*, ani też nie koreluje z wrażliwością komórek na temozolomid (TMZ).
 4. Analiza wpływu kurkuminoidów (CCM): kurkuminy, demetoksykurkuminy i bisdemetoksykurkuminy oraz maślanu sodu (NaBu) na komórki GBM i ścieżkę Wnt, w warunkach *in vitro*, wykazała że związki te zmniejszają żywotność komórek, a działanie to ma charakter synergistyczny przy stężeniu CCM powyżej 1 μM i 5 mM NaBu. Maślan sodu wpływa na wzrost przenikalność kurkuminoidów przez barierę krew-mózg oraz nasila ekspresję genów kodujących białka antagonistyczne ścieżki Wnt. Przeprowadzone badania wykazały, że CCM i NaBu stymulują proces apoptozy komórek glejaka, a efekt ten uzależniony jest od badanej linii komórkowej. Najsilniejsze działanie proapoptyczne kurkuminoidów wykazano w przypadku linii U-138 MG, natomiast NaBu wywoływał apoptozę we wszystkich analizowanych liniach komórkowych. Czynnikiem wpływającym na zahamowanie cyklu komórkowego i indukcję apoptozy komórek glejaka może być stres oksydacyjny, który obserwowano w efekcie działania CCM i NaBu.

5. Resweratrol i jego metoksyłowe pochodne przenikają przez barierę krew-mózg. Metoksyłowe pochodne resweratrolu obniżają ekspresję β -kateniny i genów docelowych ścieżki Wnt, indukują zahamowanie cyklu komórkowego oraz apoptozę w komórkach GBM. Najsilniejsze zahamowanie ścieżki Wnt obserwowano po zadziałaniu związku 3,4,4'-tri-MS, który obniżał ekspresję genów docelowych szlaku: *Axin2*, *CCND1*, *NEDD9* oraz *GSK3 β* . Ponadto, związek ten wpływał na wzrost poziomu ufosforylowanej, nieaktywnej formy β -kateniny. Resweratrol i jego metoksyłowe pochodne wpływały na ekspresję metylotransferaz DNA, natomiast nie powodowały demetylacji genów *MGMT*, *SFRP1* oraz *RUNX3*.
6. Metabolity wtórne porostów (atranoryna, kwasy kaperatowy, fizodowy, skwamatowy oraz lekanorowy) mogą być stosowane jako związki wspomagające terapię glejaków mózgu. Wykazują dobrą przenikalność przez barierę krew-mózg, działają cytotoksycznie na komórki GMB, generują w nich stres oksydacyjny oraz wpływają na zahamowanie cyklu komórkowego i indukcję apoptozy. Metabolity wtórne porostów wpływają na hamowanie działania ścieżki Wnt, a ich łączne podanie z temozolomidem wzmacnia ten efekt. Analiza aktywności transkrypcyjnej genów techniką mikromacierzy wskazuje, że kwas kaperatowy oraz TMZ wykazują najkorzystniejsze działanie przeciwnowotworowe. W efekcie czego następuje obniżenie poziomu mRNA genów kodujących białka zaangażowane w proces angiogenezy, proliferację, oraz migrację komórek.

Badania przeprowadzone przez Habilitantkę wykazały, że kanoniczna ścieżka Wnt może być źródłem nowych biomarkerów przydatnych w diagnostyce guzów glejowych mózgu oraz terapeutycznych punktów uchwytu leków i związków pochodzenia naturalnego wykorzystanych w ich terapii.

Podsumowując, badania stanowiące przedmiot osiągnięcia naukowego dr Majchrzak-Celińskiej oceniam bardzo wysoko i uważam, że otrzymane wyniki wnoszą do nauk medycznych i nauk o zdrowiu istotne elementy poznawcze i aplikacyjne oraz prowadzą do ich rozwoju. Przedstawione przez Habilitantkę publikacje, wskazują na jej dobre przygotowanie teoretyczne i opanowanie warsztatu badawczego, zdolność do współpracy oraz tworzenia zespołów badawczych, co jest wymagane od samodzielnego pracownika naukowego. Uzyskane wyniki mogą stanowić podstawę do prowadzenia dalszych badań nad potencjalnym zastosowaniem związków pochodzenia naturalnego i koksymbów w terapii glejaka mózgu w warunkach *in vivo* z wykorzystaniem modelu zwierzęcego.

3. Ocena dorobku naukowo-badawczego

Główne zainteresowania badawcze dr Aleksandry Majchrzak-Celińskiej skupiają się na analizie zmian epigenetycznych, szczególnie metylacji zachodzącej w promotorach genów, w aspekcie ich wykorzystania jako markerów chorób nowotworowych ośrodkowego układu nerwowego oraz monitorowania przebiegu ich leczenia. Analiza dorobku naukowego Habilitantki wskazuje na jej znaczący rozwój po uzyskaniu stopnia doktora. Jest cenionym naukowcem, o czym świadczą liczne cytacje jej publikacji. Prace autorstwa dr Majchrzak-Celińskiej według bazy Web of Science, były cytowane 300 razy (255 bez autocytowań), a indeks Hirscha wynosi 10. Wyniki jej badań były prezentowane również na międzynarodowych i krajowych konferencjach naukowych.

Na dojrzałość naukową Habilitantki wskazuje jej umiejętność nawiązywania współpracy z naukowcami pracującymi zarówno w jednostkach krajowych, jak i zagranicznych. Na uwagę zasługuje fakt, że pani dr Majchrzak-Celińska uczestniczyła w realizacji wielu projektów badawczych finansowanych przez Uniwersytet Medyczny w Poznaniu, Narodowe Centrum Nauki oraz Narodowe Centrum Badań i Rozwoju, w których pełniła funkcję wykonawcy. Kierowała również projektem finansowanym przez NCN w ramach konkursu MINIATURA.

W 2019 roku Habilitantka odbyła trzymiesięczny staż podoktorski na Uniwersytecie Christiana-Albrechta w Kilonii, gdzie brała udział w realizacji projektu dotyczącego możliwości wyłączenia genów (knock-out) kodujących transportery z rodziny ABC, tj. ABCB1 i ABCG2, w komórkach glejaka wielopostaciowego. Efektem tych badań było uzyskanie linii komórkowej niewykazującej ekspresji genu *ABCB1*, którą wykorzystano do sprawdzenia jak usunięcie tego genu wpływa na odpowiedź komórek glejaka na działanie temozolomidu, karmustyny i lomustyny.

Dr Majchrzak-Celińska pełniła funkcję Guest Associate Editor w Research Topic "The Role of DNA Methylation in Diagnosis, Prognosis and Treatment of Gliomas" czasopisma *Frontiers in Genetics* (IF = 4,274) oraz współpracowała przy edycji numeru specjalnego pt.: "Brain Tumors: Clinical Updates and Perspectives" czasopisma *Journal of Clinical Medicine* (IF = 4,964). Dotychczas dr Majchrzak-Celińska recenzowała 20 artykułów naukowych w czasopismach o zasięgu międzynarodowym, m.in. *PLOS One*, *International Journal of Oncology*, *Oncology Letters*, *Pharmaceutical Reports*, *Cancers*, *International Journal of Molecular Sciences* oraz *Biomedicines*.

Za swoją działalność naukową Habilitantka została uhonorowana Indywidualną Nagrodą Naukową w roku akademickim 2014/2015, dwoma Zespołowymi Nagrodami Naukowymi Rektora Uniwersytetu Medycznego w Poznaniu (2017r. i 2018 r.) oraz w uznaniu aktywności naukowej w roku akademickim 2021/2022 otrzymała stypendium konferencyjne przyznane przez Kanclerz Kolegium Nauk Farmaceutycznych.

Dokonując analizy dorobku naukowego Habilitantki można stwierdzić, że jest on spójny problemowo i bardzo często wykazuje aspekt nie tylko poznawczy, ale i praktyczny. Należy podkreślić wykorzystanie nowoczesnej i różnorodnej metodyki badań. Publikacje powstałe na podstawie przeprowadzonych eksperymentów świadczą o ukierunkowaniu Jej zainteresowań naukowych.

4. Ocena działalności dydaktycznej i organizacyjnej

Pani dr Aleksandra Majchrzak-Celińska jest doświadczonym nauczycielem akademickim. Prowadzi zajęcia dydaktyczne z przedmiotów Biochemia, Biologia molekularna, Enzymologia i Molekularne podstawy leczenia nowotworów dla studentów kierunku Farmacja, Analityka Medyczna, Biotechnologia Medyczna, Analityka Kryminalistyczna i sądowa oraz Inżynieria Farmaceutyczna. Prowadziła również seminaria i ćwiczenia laboratoryjne z przedmiotów Pharmaceutical biochemistry i Molecular biology dla kierunku anglojęzycznego PharmD. Ponadto, w 2017 roku prowadziła zajęcia fakultatywne „Hormony płciowe. W jaki sposób rozważyć podchodzić do preparatów hormonalnych”. Była promotorem 14 prac magisterskich i 2 prac licencjackich wykonanych przez studentów Wydziału Farmaceutycznego UM w Poznaniu. Warte podkreślenia jest duże zaangażowanie Pani Doktor w realizację prac magisterskich i umiejętności mentorskie, na co wskazują sukcesy jej podopiecznych w Konkursach Prac Magisterskich oraz kontynuowanie prac naukowo-badawczych w ośrodkach krajowych i zagranicznych. Od 2010 roku Habilitantka sprawuje funkcję opiekuna Studenckiego Koła Naukowego Biochemii Farmaceutycznej, gdzie studenci mogą poszerzać wiedzę z biochemii i biologii molekularnej oraz prowadzić badania w ramach realizacji grantu z funduszu Studenckich Badań Naukowych, a uzyskane wyniki prezentują na krajowych i zagranicznych konferencjach naukowych.

W 2013 roku Pani Doktor została uhonorowana Zespołową Nagrodą Dydaktyczną Rektora UM w Poznaniu za przygotowanie podręcznika „Biologia molekularna dla farmaceutów”.

Pani dr Majchrzak-Celińska bierze aktywny udział w przedsięwzięciach popularyzujących wiedzę biochemiczną, takich jak Noc Naukowców czy Poznański Festiwal Nauki i Sztuki. Ponadto organizuje wykłady dla pracowników i studentów UMP wygłaszane przez zaproszonych naukowców z ośrodków zagranicznych. Sama również przygotowała i przedstawiła wykład na temat zastosowania techniki CRISPR/Cas9 do analizy roli transporterów ABC w oporności komórek glejaka na temozolomid.

Dodatkowo Kandydatka bierze udział w szkoleniach mających na celu podnoszenie kwalifikacji zawodowych, doskonalących warsztat naukowo-badawczy oraz zwiększenie kompetencji dydaktycznych.

Jest członkiem towarzystw naukowych: Polskiego Towarzystwa Biochemicznego/FEBS i European Association for Cancer Research.

5. Podsumowanie i wnioski końcowe

Podsumowując, całość dorobku naukowego, dydaktycznego i organizacyjnego wskazuje na dojrzałość naukową oraz samodzielność dr Aleksandry Majchrzak-Celińskiej, co spełnia w moim przekonaniu wymagania stawiane przez stosowne przepisy prawne kandydatom do stopnia naukowego doktora habilitowanego. Tym samym wnioskuję o dopuszczenie Jej do dalszych etapów związanych z nadaniem stopnia naukowego doktora habilitowanego.



dr hab. n. med. Małgorzata Kaprał