



UNIwersytet Jagielloński  
COLLEGIUM MEDICUM

---

Autoreferat

Katarzyna Młyniec

**Udział receptora GPR39  
w patomechanizmie depresji  
oraz mechanizmie działania leków  
przeciwdepresyjnych**

Katedra Farmakobiologii  
Wydział Farmaceutyczny UJ CM

Kraków 2015

## SPIS TREŚCI

---

1. Informacje podstawowe
  - 1.1. Imię i Nazwisko
  - 1.2. Posiadane dyplomy, stopnie naukowe z podaniem nazwy, miejsca i roku ich uzyskania oraz tytułu rozprawy doktorskiej
  - 1.3. Informacje o dotychczasowym zatrudnieniu w jednostkach naukowych
  - 1.4. Wskazanie osiągnięcia naukowego wynikającego z art. 16 ust. 2 ustawy z dnia 14.03.2003 o stopniach naukowych i tytule naukowym
2. Osiągnięcia naukowe stanowiące podstawę habilitacji
  - 2.1. Wykaz publikacji będących podstawą habilitacji
  - 2.2. Prezentacja wyników i streszczenie prac stanowiących podstawę habilitacji
    - 2.2.1. Wstęp do prac stanowiących podstawę habilitacji
    - 2.2.2. Cel badań habilitacyjnych
    - 2.2.3. Wyniki badań, dyskusja i podsumowanie
    - 2.2.4. Piśmiennictwo
3. Pozostałe osiągnięcia naukowe
  - 3.1. Działalność naukowa oraz wykaz publikacji przed uzyskaniem stopnia doktora
  - 3.2. Działalność naukowa oraz wykaz publikacji, innych niż stanowiące podstawę habilitacji, po uzyskaniu stopnia doktora
    - 3.2.1. Wykaz publikacji innych niż przedstawione w punkcie 2.1.
  - 3.3. Prowadzenie oraz udział w projektach badawczych
  - 3.4. Promotorstwo pomocnicze w przewodach doktorskich
  - 3.5. Udział w szkoleniach, konferencjach krajowych i międzynarodowych, w tym spis komunikatów zjazdowych
    - 3.5.1. Spis komunikatów zjazdowych
    - 3.5.2. Udział w krajowych i międzynarodowych konferencjach
    - 3.5.3. Przebyte szkolenia i kursy
  - 3.6. Recenzje prac naukowych
  - 3.7. Staże naukowe krajowe i zagraniczne
  - 3.8. Współpraca naukowa krajowa i zagraniczna
    - 3.8.1. Współpraca krajowa
    - 3.8.2. Współpraca zagraniczna
    - 3.8.3. Przynależność do organizacji naukowych
4. Nagrody i wyróżnienia
5. Działalność dydaktyczna i organizacyjna
6. Dalsze plany badawcze

# 1. INFORMACJE PODSTAWOWE

## 1.1. Imię i Nazwisko

**Katarzyna Młyniec**

## 1.2. Posiadane dyplomy, stopnie naukowe z podaniem nazwy, miejsca i roku ich uzyskania oraz tytułu rozprawy doktorskiej

- o Doktor nauk farmaceutycznych – Katedra Farmakobiologii Wydziału Farmaceutycznego Uniwersytetu Jagiellońskiego Collegium Medicum, Kraków dn. 24.10.2011 r. Tytuł rozprawy doktorskiej: „Neurobiologiczne i behawioralne aspekty niedoboru cynku w depresji“.
- o Magister biologii – Wydział Biologii, Geografii i Oceanologii Uniwersytetu Gdańskiego, specjalność: biologia eksperymentalna, Gdańsk 2005 r.
- o Ukończenie studiów podyplomowych w zakresie Farmacji Przemysłowej – Wydział Farmaceutyczny Uniwersytetu Jagiellońskiego Collegium Medicum, Kraków dn. 25.06.2006 r.

## 1.3. Informacje o dotychczasowym zatrudnieniu w jednostkach naukowych

- o 01.2015 – obecnie adiunkt w Zakładzie Cytobiologii Katedry Farmakobiologii Wydziału Farmaceutycznego UJ CM
- o 10.2013 – 12.2014 adiunkt w Zakładzie Biochemii Toksykologicznej Katedry Toksykologii Wydziału Farmaceutycznego UJ CM
- o 10.2011 – 09.2013 asystent w Zakładzie Biochemii Toksykologicznej Katedry Toksykologii Wydziału Farmaceutycznego UJ CM
- o 04.2010 – 01.2014 ½ etatu na stanowisku inżynierjno-technicznym w Zakładzie Neurobiologii Instytutu Farmakologii Polskiej Akademii Nauk w Krakowie

## 1.4. Wskazanie osiągnięcia naukowego wynikającego z art. 16 ust. 2 ustawy z dnia 14.03.2003 o stopniach naukowych i tytule naukowym

Podstawę niniejszej habilitacji stanowi monotematyczny cykl publikacji przedstawionych jako osiągnięcie naukowe w punkcie 2.1. (P-1 – P-7) o wspólnym tytule:

**„Udział receptora GPR39 w patomechanizmie depresji oraz mechanizmie działania leków przeciwdepresyjnych“**

## 2. OSIĄGNIĘCIA NAUKOWE STANOWIĄCE PODSTAWĘ HABILITACJI

---

### 2.1. Wykaz publikacji będących podstawą habilitacji

- P-1. **Młyniec K**, Doboszewska U, Szewczyk B, Sowa-Kućma M, Misztak P, Piekoszewski W, Trela F, Ostachowicz B, Nowak G. The involvement of the GPR39 Zn(2+)-sensing receptor in the pathophysiology of depression. Studies in rodent models and suicide victims. *Neuropharmacology* 2014, 79C, 290-297.  
(Elsevier; **IF**<sub>2014</sub> = **4,819**; MNiSW<sub>2014</sub> = 40 pkt)
- P-2. **Młyniec K**, Budziszewska B, Holst B, Ostachowicz B, Nowak G. GPR39 (zinc receptor) knockout mice exhibit depression-like behavior and CREB/BDNF down-regulation in the hippocampus. *International Journal of Neuropsychopharmacology* 2015, 18, 1-8.  
(Oxford University Press; **IF**<sub>2014</sub> = **5,264**; MNiSW<sub>2014</sub> = 40 pkt)
- P-3. **Młyniec K**, Gawęł M, Librowski T, Reczyński W, Bystrowska B, Holst B. Investigation of the GPR39 zinc receptor following inhibition of monoaminergic neurotransmission and potentialization of glutamatergic neurotransmission. *Brain Research Bulletin* 2015, w druku. doi: 10.1016/j.brainresbull.2015.04.005.  
(Elsevier; **IF**<sub>2014</sub> = **2,974**; MNiSW<sub>2014</sub> = 20 pkt)
- P-4. **Młyniec K**, Nowak G. GPR39 up-regulation after selective antidepressants. *Neurochemistry International* 2013, 62(7):936-9.  
(Elsevier; **IF**<sub>2013</sub> = **2,650**; MNiSW<sub>2013</sub> = 25 pkt)
- P-5. **Młyniec K**, Nowak G. Up-regulation of the GPR39 Zn(2+)-sensing receptor and CREB/BDNF/TrkB pathway after chronic but not acute antidepressant treatment in the frontal cortex of zinc-deficient mice. *Pharmacological Reports* 2015, w druku. doi: 10.1016/j.pharep.2015.04.003.  
(Elsevier; **IF**<sub>2014</sub> = **2,165**; MNiSW<sub>2014</sub> = 25 pkt)
- P-6. **Młyniec K**, Gawęł M., Nowak G. Study of antidepressant drugs in GPR39 (zinc receptor -/-) knockout mice, showing no effect of conventional antidepressants, but effectiveness of NMDA antagonists. *Behavioural Brain Research* 2015, 287, 135-138.  
(Elsevier; **IF**<sub>2014</sub> = **3,391**; MNiSW<sub>2014</sub> = 30 pkt)
- P-7. **Młyniec K**, Singewald N, Holst B, Nowak G. GPR39 Zn<sup>2+</sup>-sensing receptor: A new target in antidepressant development? *Journal of Affective Disorders* 2015, 174, 89-100.  
(Elsevier; **IF**<sub>2014</sub> = **3,705**; MNiSW<sub>2014</sub> = 35 pkt)

Przedstawione powyżej publikacje (P-1 – P-7) będące podstawą habilitacji stanowią:

- o sumę Impact Factor równą **24,968**
- o sumę punktów MNiSW równą **215**

## 2.2. Prezentacja wyników i streszczenie prac stanowiących podstawę habilitacji

### 2.2.1. Wstęp do prac stanowiących podstawę habilitacji

Długi czas oczekiwania na działanie terapeutyczne powszechnie stosowanych leków przeciwdepresyjnych, ich uporczywe, a także zagrażające życiu działania niepożądane, niewątpliwie dają do zrozumienia jak ważne jest poszukiwanie nowych substancji niosących ulgę chorym na depresję. Pomimo wielu dekad badań nad tą chorobą, właściwy patomechanizm choroby nadal nie został do końca poznany. W dalszym ciągu brak jest środków terapeutycznych o szybkim i względnie bezpiecznym działaniu. Teoria monoaminergiczna zakładająca niedobór serotoniny, noradrenaliny, a także dopaminy, nie do końca wyjaśniła podłoże powstawania choroby. Późniejsza, glutamatergiczna teoria depresji zaowocowała uznaniem ketaminy jako leku o niemalże natychmiastowym działaniu. Niestety przez wzgląd na bardzo niebezpieczne działania niepożądane, ketamina nie może być powszechnie stosowana. Nie mniej jednak prowadzone są intensywne badania nad lekami obniżającymi poziom glutaminianu, bowiem u podłoża glutamatergicznej teorii depresji leży nadmierne pobudzenie, poprzez przewagę glutaminianu nad kwasem  $\gamma$ -aminomasłowym w mózgu. Badania zarówno przedkliniczne jak i kliniczne wykazały przeciwdepresyjne właściwości substancji będących antagonistami układu glutamatergicznego [1,2]. Naturalnie występującym w przyrodzie antagonistą jest cynk, którego powiązanie z depresją zostało udowodnione. Cynk poprzez swoje miejsce wiążące na podjednostce receptora NMDA, hamuje jego aktywność w ośrodkowym układzie nerwowym (OUN). Właściwości przeciwdepresyjne cynku zostały udowodnione zarówno w badaniach przedklinicznych jak i w klinice. Pacjenci, którzy poza terapią przeciwdepresyjną suplementowani byli cynkiem, wykazywali znacznie lepszą odpowiedź terapeutyczną względem tych otrzymujących *placebo* [3]. Wiele niezależnych ośrodków wykazało nieprawidłowo niskie stężenie cynku u pacjentów depresyjnych względem zdrowych ochotników [4,5]. Niewiadomą jednak pozostawało, czy obniżony poziom cynku to przyczyna czy rezultat trwającej choroby. Stało

się to przedmiotem mojej pracy doktorskiej, której konkluzje wskazują na deficit cynku jako jedną z przyczyn rozwoju zachowań depresyjnych i zmian temu towarzyszących w OUN. Niedobór pierwiastka powodował m.in. zachowania depresyjne mierzone testem wymuszonego pływania, testem zawieszenia za ogon oraz testem preferencji sacharozy, jak również przyczyniał się do nadmiernej aktywacji głównej osi stresu, osi podwzgórze-przysadka-nadnercza [6–8]. Co więcej, prawdopodobnie był przyczyną braku odpowiedzi terapeutycznej na powszechnie stosowane leki przeciwdepresyjne, stanowiąc tym samym o deficycie cynku jako możliwej przyczynie lekooporności [9]. Biorąc pod uwagę badania przedkliniczne z deficytem cynku, jak również obniżony poziom pierwiastka u pacjentów depresyjnych, zaproponowano cynk jako potencjalny kliniczny marker depresji [10].

Rok 2007 stał się przełomowy w pracach nad rolą cynku w OUN, kiedy udowodniono, że cynk funkcjonuje jako neurotransmitter poprzez receptor GPR39 [11,12]. GPR39 należy do podrodziny receptorów greliny. Początkową informację, że jest on receptorem dla obestatyny zdementowano, uznając cynk za naturalnego agonistę receptora GPR39. Mając na względzie istotne rezultaty badań nad cynkiem w depresji, powstało pytanie o udział jego receptora w chorobie, stanowiąc jednocześnie cel niniejszego cyklu prac będących podstawą habilitacji.

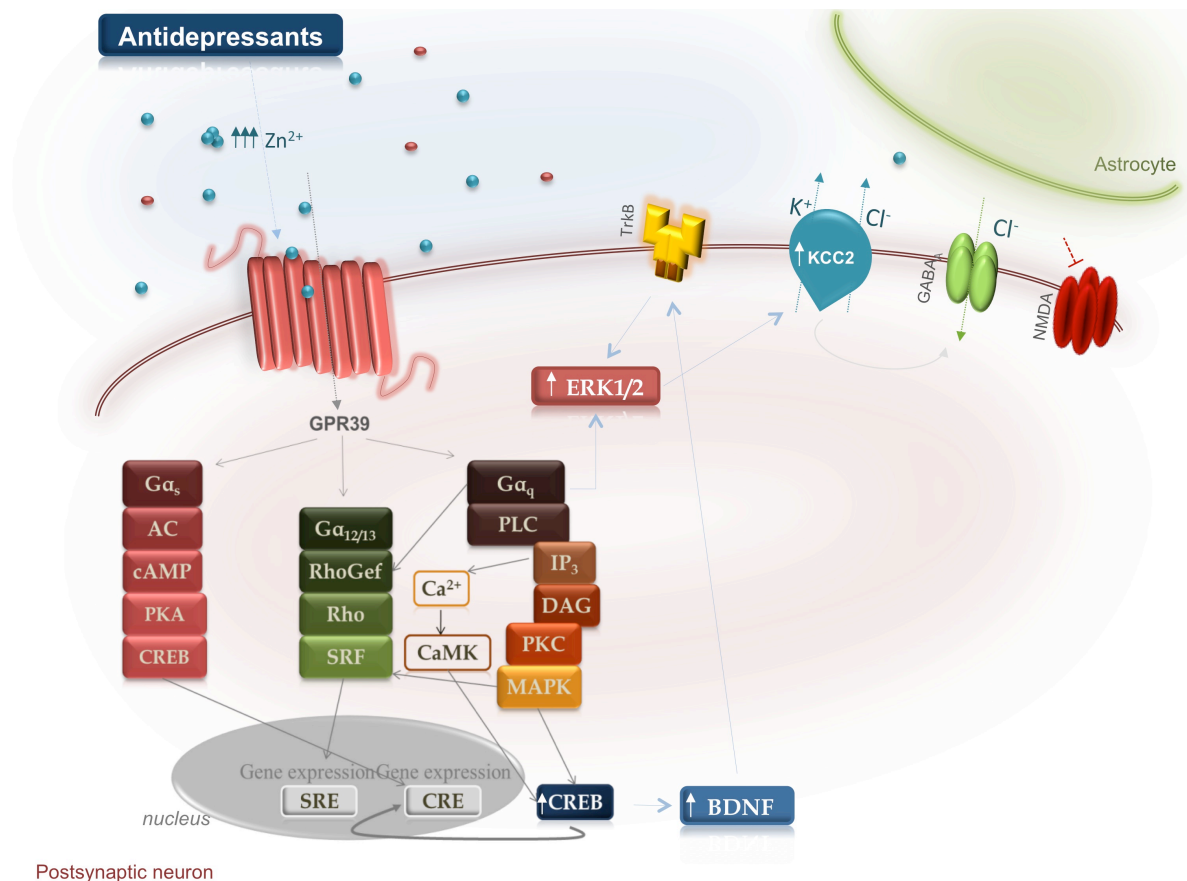
GPR39 jest receptorem metabotropowym, którego zwiększoną ekspresję zaobserwowano, spośród struktur mózgowych, w hipokampie, korze frontalnej oraz ciele migdałowatym, a więc miejscach związanych z emocjami. Szczególną jego obecność odkryto w rejonie CA3 hipokampa. Zwrócono uwagę, że  $Zn^{2+}$  uwalniany wraz z glutaminianem z zakończeń włókien mszystych rejonu CA3 hipokampa, może wpływać na funkcje synaptyczne poprzez postsynaptyczny cynkowy receptor GPR39 [12].

Wyróżnia się dwie formy receptora GPR39: GPR39-1a zawierającą 7 domen transbłonowych oraz jego skróconą formę GPR39-1b, zawierającą 5 domen transbłonowych. Aktywacja receptora GPR39 przez  $Zn^{2+}$  manifestuje się uruchomieniem szlaków neuronalnych związanych z białkami  $G\alpha_q$ ,  $G\alpha_{12/13}$ , a także  $G\alpha_s$  (Ryc. 1). GPR39 posiada także wysoką aktywność konstytutywną poprzez szlak związany z  $G\alpha_q$ , który stymuluje trójfosforan inozytolu (IP3) oraz czynniki transkrypcyjne aktywowane w odpowiedzi na cAMP (CRE). Konsekwencją aktywacji szlaków związanych z receptorem GPR39 jest wzrost czynnika transkrypcyjnego CREB, którego istotną rolę wykazano w depresji.

Białko CREB wpływa na zwiększenie poziomu neurotroficznego czynnika pochodzenia mózgowego BDNF, który wykazuje działanie neuroprotekcyjne i stanowi o szeroko pojętej neuroplastyczności, niezwykle istotnej w odpowiedzi terapeutycznej na leki przeciwdepresyjne. W związku z powyższym w przedstawionych pracach stanowiących

podstwę habilitacji poza badaniem samego receptora GPR39, badany był hipokampalny i korykalny szlak CREB/BDNF/TrkB w deficycie cynku oraz deficycie receptora GPR39, a więc czynnikach stanowiących o wystąpieniu zachowań depresyjnych.

Receptor GPR39, podobnie jak cynk, nie pozostaje obojętny wobec glutamatergicznej teorii depresji. Wykazano bowiem jego wpływ na utrzymanie homeostazy pomiędzy głównym systemem pobudzającym – glutamatergicznym, a głównym systemem hamującym – GABA-ergicznym w OUN [13]. Aktywacja receptora GPR39 w rejonie CA3 hipokampa prowadzi do zwiększonej aktywności  $K^+/Cl^-$  kotransportera potasu i chloru (KCC2), który odgrywa kluczową rolę w wystąpieniu hiperpolaryzacji wpływając na receptor  $GABA_A$  (Ryc. 1). W konsekwencji dochodzi do zwiększenia napływu  $Cl^-$  do komórki wywierając hamujący wpływ na nadmierne pobudzenie glutaminianem i związaną z nim ekscytotoksycnością.



Ryc. 1 Prawdopodobny mechanizm działania receptora GPR39 w odpowiedzi na leki przeciwdepresyjne (z [14], zodyfikowany).

Biorąc pod uwagę istotną rolę cynku w patomechanizmie depresji, jak również szereg dowodów świadczących o udziale cynkowego receptora GPR39 w OUN, w tym jego wpływ

na poziom glutamianiu oraz neuroplastyczność, powstało z mojej strony pytanie o udział receptora GPR39 w patomechanizmie depresji oraz mechanizmie działania leków przeciwdepresyjnych.

#### 2.2.2. Cel badań habilitacyjnych

Celem przedstawionych w punkcie 2. niniejszego autoreferatu prac stanowiących podstawę habilitacji było udzielenie odpowiedzi na pytanie czy i w jakim zakresie cynkowy receptor GPR39 bierze udział w patomechanizmie depresji, jak również mechanizmie działania leków przeciwdepresyjnych poprzez:

- zbadanie ekspresji receptora GPR39 w hipokampie i korze frontalnej myszy oraz szczurów po diecie z deficytem cynku, a także szczurów po usunięciu opuszek węchowych;
- zbadanie ekspresji receptora GPR39 w hipokampie oraz korze fronalnej samobójców;
- zbadanie aktywności behawioralnej zwierząt pozbawionych receptora GPR39 (*GPR39 knockout*);
- zbadanie poziomów tryptofanu, tyrozyny oraz glutamianu w hipokampie i korze fronalnej u myszy pozbawionych receptora GPR39;
- zbadanie ekspresji receptora GPR39 po zablokowaniu transmisji serotoninerdycznej, noradrenergicznej oraz dopaminergicdycznej, a także nasileniu transmisji glutamaterdycznej;
- zbadanie ekspresji receptora GPR39 w korze frontalnej po chronicdnych podaniach leków przeciwdepresyjnych tj. imipramina, escitalopram, reboksetyna, bupropion, myszy karmionych dietą z prawidłową oraz obniżoną zawartością cynku;
- zbadanie aktywności behawioralnej u myszy pozbawionych receptora GPR39 po chronicdnych podaniach imipraminy, escitalopramu, reboksetyny, MK-801 oraz po jednorazowym podaniu imipraminy, MK-801 lub ketaminy.



### 2.2.3. Wyniki badań, dyskusja i podsumowanie

P-1. **Młyniec K**, Doboszevska U, Szewczyk B, Sowa-Kućma M, Misztak P, Piekoszewski W, Trela F, Ostachowicz B, Nowak G. The involvement of the GPR39 Zn(2+)-sensing receptor in the pathophysiology of depression. Studies in rodent models and suicide victims. *Neuropharmacology* 2014, 79C, 290-297.

(Elsevier; **IF<sub>2014</sub> = 4,819**; MNiSW<sub>2014</sub> = 40 pkt)

W niniejszej pracy badana była ekspresja zarówno kortykalnego, jak i hipokampalnego receptora GPR39 w modelach depresji oraz u ofiar samobójstwa. Ponieważ zarówno cynk, jak i receptor GPR39 wydaje się mieć związek z neuronalnym szlakiem CREB/BDNF/TrkB, dokonano dodatkowo analizy ekspresji białek wchodzących w skład szlaku, u myszy z deficytem cynku. W pierwszej kolejności zmierzony został poziom cynku w surowicy krwi celem weryfikacji wpływu diety na ogólny poziom pierwiastka w organizmie. Sześciotygodniowa dieta z niską zawartością cynku (0,2 mg Zn/kg) skutkowała istotnym obniżeniem poziomu pierwiastka w surowicy krwi względem zwierząt otrzymujących paszę kontrolną (33,5 mg Zn/kg). Następnie u myszy z deficytem cynku zostały wykonane testy behawioralne tj. test wymuszonego pływania, zaprojektowany przez Porsolta i wsp. [15] oraz test zmodyfikowany, trwający o 2 min. dłużej niż w procedurze standardowej. Należy mieć na względzie fakt, że Porsolt i wsp. zaproponowali test wymuszonego pływania celem określenia właściwości przeciwdepresyjnych danej substancji, a nie określenia zachowań prodepresyjnych, zatem dokładność pomiaru nie do końca może być obiektywna przez wzgląd na brak istotności statystycznej wynikającej często z niewielkich różnic między czasem immobilizacji zwierząt kontrolnych, a badanych. Wspomniany test został wcześniej zwalidowany przy zastosowaniu leków przeciwdepresyjnych (Ryc. 2 niniejszej pracy).

Zwierzęta otrzymujące dietę z deficytem cynku przez 6 tygodni wykazały istotny wzrost czasu immobilizacji w teście wymuszonego pływania (Ryc. 1 niniejszej pracy), nie wykazując zmian w teście spontanicznej aktywności lokomotorycznej. Otrzymane rezultaty są zgodne z innymi badaniami, w których obserwowano wydłużony czas bezruchu u gryzoni po paszy z deficytem cynku [7,16], sugerując niedobór pierwiastka jako przyczynę rozwoju zachowań depresyjnych. Przez wzgląd na liczne potwierdzające się wyniki dotyczące depresyjnego behawioru w deficycie cynku, zwierzęta z wywołanym niedoborem pierwiastka zaproponowano jako przedkliniczny model depresji.

W dalszej części badań analizowana była ekspresja receptora GPR39 w przedklinicznym modelu depresji tj. deficycie cynku u myszy i szczurów oraz po bulbektomii (usunięciu opuszek węchowych). Zmiany receptora GPR39 mierzone były także w badaniach *postmortem* na mózgach samobójców. Analiza Western Blot wykazała istotną down-regulację receptora GPR39 u myszy i szczurów z deficytem cynku zarówno w hipokampie jak i w korze frontalnej (Ryc. 3A,B oraz 4A,B niniejszej pracy). Podobne wyniki tj. down-regulację hipokampalnego i kortykalnego receptora GPR39 obserwowano w mózgach samobójców (Ryc. 6 niniejszej pracy), sugerując istotną rolę receptora cynkowego w patomechanizmie depresji. GPR39 up-regulacja w hipokampie szczurów miała miejsce po bulbektomii. Takie różnice mogą wynikać z faktu, iż jest to model depresji agitowanej, zatem wyniki w tym modelu mają prawo się różnić od zmian obserwowanych w modelach związanych z dużą depresją. Przykładowo po bulbektomii nie odnotowano zmian w poziomie cynku, podczas gdy spadek tego pierwiastka miał miejsce w modelu chronicznego nieprzewidywalnego stresu. Co więcej, po usunięciu opuszek węchowych zauważono podwyższony poziom BDNF w surowicy krwi, białka, którego istotną redukcję obserwuje się w przebiegu dużej depresji.

W niniejszej pracy dodatkowo analizowany był poziom białek wchodzących w skład szlaku CREB/BDNF/TrkB, mogącego mieć związek z receptorem cynkowym. Myszy po 6-tygodniowej diecie z deficytem cynku wykazały istotną redukcję hipokampalnych białek CREB, BDNF oraz TrkB, z których (co zostanie przedstawione w kolejnej publikacji) również CREB i BDNF były znacząco obniżone u zwierząt pozbawionych receptora GPR39.

**Wnioski:** Deficyt cynku powoduje **istotną redukcję hipokampalnego i kortykalnego receptora GPR39 u myszy i szczurów**. Ponadto **down-regulacja receptora GPR39 ma miejsce w hipokampie i korze frontalnej samobójców**. **Otrzymane wyniki potwierdzają istotną rolę cynkowego receptora GPR39 w patomechanizmie depresji**.

P-2. **Młyniec K**, Budziszewska B, Holst B, Ostachowicz B, Nowak G. GPR39 (zinc receptor) knockout mice exhibit depression-like behavior and CREB/BDNF down-regulation in the hippocampus. *International Journal of Neuropsychopharmacology* 2015, 18, 1-8.

(Oxford University Press; **IF<sub>2014</sub> = 5,264**; MNiSW<sub>2014</sub> = 40 pkt)

Celem kolejnej pracy była analiza behawioralna myszy pozbawionych receptora GPR39 (GPR39 *knockout*) oraz analiza biochemiczna szlaku CREB/BDNF/TrkB w hipokampie

oraz korze frontalnej u tychże zwierząt. Przedstawione w poprzedniej pracy niniejszego cyklu wyniki udowodniły udział receptora GPR39 w depresji. Niewiadomym jednak pozostawało czy receptor GPR39 może w sposób bezpośredni przyczyniać się do rozwoju zachowań obserwowanych w chorobie. W związku z powyższym w badaniach użyto myszy z usuniętym genem receptora GPR39, u których wykazano wzrost czasu immobilizacji w teście wymuszonego pływania zarówno standardowym, jak i zmodyfikowanym (Ryc. 1A,B niniejszej pracy), przy jednoczesnym braku zmian w aktywności lokomotorycznej (Tab. 1 niniejszej pracy). Kolejny test tj. test zawieszenia za ogon potwierdził istotnie wyższy czas immobilizacji względem zwierząt (typu dzikiego), posiadających gen GPR39 (Ryc. 2 niniejszej pracy). W dalszej kolejności wykonana została analiza behawioralna testem light/dark, mającym na celu określenie zachowań pro-lękowych. Wyniki wykazały istotną redukcję wejść do przedziału jasnego, redukcję liczby przecinania linii oraz wzrost czasu immobilizacji u zwierząt pozbawionych receptora GPR39 względem typu dzikiego, świadcząc o roli receptora GPR39 w patomechanizmie depresji z komponentą lękową (Tab. 2 niniejszej pracy).

W dalszej kolejności przeprowadzona została analiza szlaku CREB/BDNF/TrkB mogącego mieć potencjalny związek z aktywnością receptora GPR39. Okazało się, że myszy pozbawione receptora GPR39 (GPR39<sup>-/-</sup>) wykazują istotnie niższy poziom CREB i BDNF w hipokampie (Ryc. 3 niniejszej pracy). Nie odnotowano takich zmian w korze frontalnej, wskazując hipokamp na bardziej wrażliwy rejon w OUN na zmiany wynikające prawdopodobnie z braku receptora GPR39.

Kolejne badania przedstawione w niniejszej pracy miały na celu wyjaśnienie czy obserwowane zmiany behawioralne oraz biochemiczne mogą mieć związek z aktywacją osi podwzgórze-przysadka-nadnercza (PPN), której dysregulacja ma miejsce w deficycie cynku. W związku z powyższym u zwierząt pozbawionych receptora GPR39 zmierzony został poziom kortykosteronu w surowicy krwi. W przeciwieństwie do deficytu cynku, gdzie jego poziom był znacząco wyższy względem zwierząt z prawidłowym poziomem pierwiastka, nie zanotowano istotnych różnic pomiędzy myszami typu knockout (GPR39<sup>-/-</sup>) a typem dzikim. Ponadto dokonano analizy receptorów glikokortykoidowych w hipokampie i korze frontalnej zarówno u zwierząt z deficytem cynku, jak i u tych pozbawionych receptora GPR39. Dieta o obniżonej zawartości cynku podawana przez 6 tygodni powodowała znaczący spadek receptorów glikokortykoidowych w obu strukturach względem zwierząt po diecie z prawidłową zawartością pierwiastka (Ryc. 5A,B niniejszej pracy). Zmian takich nie zanotowano u zwierząt GPR39<sup>-/-</sup> względem typu dzikiego (Ryc. 5C,D niniejszej pracy).

Uzyskane wyniki świadczą o tym, że obserwowany depresyjny behavior u zwierząt pozbawionych receptora GPR39 nie może wynikać ze zmian aktywności osi PPN, odgrywającej bardzo istotną rolę w przebiegu reakcji stresowej.

**Wnioski:** Przedstawione w niniejszej pracy wyniki stanowią dowód na związek receptora GPR39 z depresją. **Brak GPR39 u myszy powodował zachowania depresyjne z komponentą lękową.** Ponadto zaobserwowano **istotnie obniżony poziom hipokampalnych białek CREB i BDNF, mogących mieć bezpośredni związek z receptorem.** Nie zanotowano w przeciwieństwie do deficytu cynku zmian w aktywności osi PPN, zatem obserwowany behavior nie może wynikać z jej dysregulacji. Niniejsza praca stanowi kolejny dowód na **bardzo istotną rolę receptora GPR39 w patomechanizmie depresji.**

- P-3. **Młyniec K**, Gawel M, Librowski T, Reczyński W, Bystrowska B, Holst B. Investigation of the GPR39 zinc receptor following inhibition of monoaminergic neurotransmission and potentialization of glutamatergic neurotransmission. *Brain Research Bulletin* 2015, w druku. doi: 10.1016/j.brainresbull.2015.04.005. (Elsevier; **IF<sub>2014</sub> = 2,974**; MNiSW<sub>2014</sub> = 20 pkt)

Celem niniejszej pracy było określenie relacji pomiędzy układem monoaminergicznym i glutamatergicznym a receptorem GPR39 przez zbadanie w jakim zakresie ekspresja cynkowego receptora GPR39 ulega zmianie po zablokowaniu transmisji serotonergicznej, noradrenergicznej oraz dopaminergicznej, a także po nasileniu transmisji glutamatergicznej. Ponadto badane były poziomy tryptofanu, tyrozyny oraz glutaminy w korze frontalnej, a także w hipokampie myszy pozbawionych receptora GPR39 (GPR39<sup>-/-</sup>).

Subchroniczne (3-dniowe) podania inhibitora układu serotonergicznego – p-chlorofenyloalaniny (pCPA); inhibitora układu noradrenergicznego i dopaminergicznego –  $\alpha$ -metylotyrozyny ( $\alpha$ MT) lub agonisty układu glutamatergicznego – kwasu N-metylo-D-asparaginowego (NMDA) nie powodowały zmian w poziomie hipokampalnego receptora GPR39 (Ryc. 1A niniejszej pracy). W korze frontalnej natomiast obserwowano GPR39 up-regulację po wspomnianych związkach za wyjątkiem pCPA (Ryc. 1B niniejszej pracy). Chroniczne (10-dniowe) podania pCPA,  $\alpha$ MT lub NMDA powodowały istotną redukcję

receptora GPR39 w hipokampie. Nie odnotowano natomiast jakichkolwiek zmian w korze frontalnej myszy po w/w związkach (Ryc. 2A,B).

Dalsze badania miały na celu weryfikację poziomów tryptofanu, tyrozyny a także glutaminianu w hipokampie oraz korze frontalnej myszy pozbawionych receptora GPR39. Knockout receptora GPR39 powodował istotną redukcję poziomu tryptofanu czy tyrozyny w hipokampie myszy względem typu dzikiego (Ryc. 4A,B). Nie odnotowano jakichkolwiek różnic w poziomach glutaminianu w hipokampie oraz wszystkich aminokwasów w korze frontalnej pomiędzy grupą GPR39<sup>+/+</sup> a grupą GPR39<sup>-/-</sup> (Ryc. 4C – hipokamp; Ryc. 5A,B,C – kora frontalna).

**Wnioski:** Chroniczne iniekcje pCPA,  $\alpha$ MT lub NMDA powodowały **istotną redukcję hipokampalnego receptora GPR39. Myszy pozbawione genu dla receptora GPR39 z kolei wykazywały znamienne niższy poziom tryptofanu i tyrozyny.** Niniejsze wyniki stanowią dowód na **związek neurotransmisji serotonergicznej, noradrenergicznej dopaminergicznej oraz glutamatergicznej z receptorem GPR39.**

P-4. **Młyniec K**, Nowak G. GPR39 up-regulation after selective antidepressants. *Neurochemistry International* 2013, 62(7):936-9. (Elsevier; **IF**<sub>2013</sub> = **2,650**; MNiSW<sub>2013</sub> = 25 pkt)

Badania przeprowadzone w niniejszej pracy miały udzielić odpowiedzi na pytanie czy receptor GPR39 ulega zmianom adaptacyjnym w korze frontalnej po chronicznych podaniach leków przeciwdepresyjnych. W tym celu dokonana została analiza ekspresji kortykalnego receptora GPR39 po lekach przeciwdepresyjnych o różnych mechanizmach działania, tj. imipraminy (trójcykliczny lek przeciwdepresyjny; 30 mg/kg), escitalopramu (selektywny inhibitor wychwytu zwrotnego serotoniny; 4 mg/kg), reboksetyny (selektywny inhibitor wychwytu zwrotnego noradrenaliny; 10 mg/kg) lub bupropionu (selektywny inhibitor wychwytu zwrotnego noradrenaliny i dopaminy; 15 mg/kg). Związki podawane były dootrzewnowo, chronicznie tj. przez 14 dni. Grupa kontrolna również chronicznie otrzymywała każdego dnia sól fizjologiczną.

Analiza Western Blot wykazała istotną up-regulację receptora GPR39 po podaniach escitalopramu (o 290%), reboksetyny (o 816%) oraz bupropionu (o 272%). Nie zaobserwowano zmian po chronicznej iniekcji imipraminą, sugerując adaptację cynkowego receptora GPR39 po selektywnych lekach przeciwdepresyjnych. Dwa tygodnie podawania

trójcyklicznego leku przeciwdepresyjnego wydaje się niewystarczające do zaobserwowania zmian adaptacyjnych.

Obserwowane wyniki tj. up-regulacja kortykalnego receptora cynkowego po selektywnych lekach przeciwdepresyjnych, może mieć związek z poziomem zarówno białka CREB, jak i BDNF, których down-regulację obserwuje się w przebiegu depresji, zaś ich wzrost koreluje z uzyskaniem odpowiedzi terapeutycznej. GPR39 jak już wcześniej wspomniałam aktywuje szlak związany z CREB, który jednocześnie indukuje neurotropowy czynnik pochodzenia mózgowego BDNF, odgrywający istotną rolę w neuroprotekcji i szeroko pojętej plastyczności neuronalnej.

**Wnioski:** Wyniki niniejszej pracy wskazują na zmiany adaptacyjne (up-regulację) receptora GPR39 po chronicznych podaniach selektywnych leków przeciwdepresyjnych, stanowiąc dowód na **możliwy udział cynkowego receptora w mechanizmie działania leków przeciwdepresyjnych.**

P-5. **Młyniec K**, Nowak G. Up-regulation of the GPR39 Zn(2+)-sensing receptor and CREB/BDNF/TrkB pathway after chronic but not acute antidepressant treatment in the frontal cortex of zinc-deficient mice. *Pharmacological Reports* 2015, w druku. doi: 10.1016/j.pharep.2015.04.003.

(Elsevier; **IF**<sub>2014</sub> = **2,165**; MNiSW<sub>2014</sub> = 25 pkt)

Celem niniejszej pracy było udzielenie odpowiedzi na pytanie czy ekspresja receptora GPR39 ulega zmianie w korze frontalnej po podaniach leków przeciwdepresyjnych o różnych mechanizmach działania u zwierząt otrzymujących paszę z deficytem cynku przez 6 tygodni. Ponadto badane były poziomy białek wchodzących w skład hipokampalnego szlaku CREB/BDNF/TrkB również przy zredukowanym poziomie cynku w organizmie.

Jednorazowe podania leków przeciwdepresyjnych tj. imipraminy (30 mg/kg), escitalopramu (4 mg/kg), reboksetyny (10 mg/kg) czy bupropionu (15 mg/kg) powodowały istotną down-regulację receptora GPR39 (Ryc. 2 niniejszej pracy). Zupełnie odwrotne wartości obserwowane były po chronicznych podaniach w/w związków. Wszystkie wspomniane leki przeciwdepresyjne spowodowały istotną up-regulację receptora GPR39 w korze frontalnej myszy (Ryc. 3 niniejszej pracy).

Dalsze badania miały na celu analizę zmian białek wchodzących w skład szlaku CREB/BDNF/TrkB w korze frontalnej myszy po 6-tygodniowej diecie z deficytem cynku

oraz jednorazowych lub chronicznych podaniach w/w leków przeciwdepresyjnych. Jenorazowe podania imipraminy, escitalopramu, reboksetyny lub bupropionu powodowały istotną redukcję białka CREB w korze frontalnej myszy ze zredukowaną ilością cynku względem zwierząt otrzymujących poza dietą z ograniczoną zawartością pierwiastka, również sól fizjologiczną w pojedynczej iniekcji. Niejednoznaczne wyniki miały miejsce w przypadku białek BDNF i TrkB po jednorazowych podaniach leków przeciwdepresyjnych, bowiem w przypadku BDNF zaobserwowano down-regulację (imipramina, escitalopram), up-regulację (reboksetyna) lub brak zmian (bupropion), zaś w przypadku TrkB down-regulację (imipramina, escitalopram, reboksetyna) lub brak zmian (bupropion) (Ryc. 4 niniejszej pracy). Chroniczne podania leków przeciwdepresyjnych w deficycie cynku spowodowały istotną up-regulację wszystkich białek wchodzących w skład kortykalnego szlaku CREB/BDNF/TrkB myszy (Ryc. 5 niniejszej pracy).

**Wnioski:** Zmiany adaptacyjne receptora GPR39 po lekach przeciwdepresyjnych o różnych mechanizmach działania, są kolejnym dowodem na istotną rolę receptora w mechanizmie działania tychże leków. Co więcej dane te wskazują na **receptor GPR39 jako potencjalny cel terapii przeciwdepresyjnej** (szczegóły opisane w podsumowaniu). Ponadto przedstawione wyniki wskazują, że **chroniczne podania leków przeciwdepresyjnych powodują up-regulację kortykalnego szlaku CREB/BDNF/TrkB w przedklinicznym modelu depresji jakim jest deficyt cynku u myszy.**

P-6. **Młyniec K**, Gawel M., Nowak G. Study of antidepressant drugs in GPR39 (zinc receptor -/-) knockout mice, showing no effect of conventional antidepressants, but effectiveness of NMDA antagonists. *Behavioural Brain Research* 2015, 287, 135-138. (Elsevier; **IF**<sub>2014</sub> = **3,391**; **MNiSW**<sub>2014</sub> = 30 pkt)

Celem niniejszej pracy była analiza behawioralna zwierząt pobawionych receptora GPR39 po podaniach leków przeciwdepresyjnych działających na układ monoaminergiczny tj. imipramina (30 mg/kg), escitalopram (4 mg/kg) lub reboksetyna (10 mg/kg) oraz po podaniach związków hamujących układ glutamatergiczny poprzez antagonizm względem glutamatergicznego receptora NMDA, tj. MK-801 (0,25 mg/kg) czy ketamina (25 mg/kg). Chroniczne podania imipraminy, escitalopramu, reboksetyny czy MK-801 myszom typu dzikiego GPR<sup>+/+</sup> powodowały istotną redukcję czasu immobilizacji w teście

wymuszonego pływania, nie powodując jednocześnie istotnych zmian w teście spontanicznej aktywności lokomotorycznej względem zwierząt kontrolnych otrzymujących sól fizjologiczną (Ryc. 1A,C niniejszej pracy). U zwierząt pozbawionych receptora GPR39 (GPR39<sup>-/-</sup>) jedynie chronicznie podany MK-801 powodował znaczącą redukcję czasu bezruchu względem myszy o tym samym genotypie otrzymujących sól fizjologiczną. Nie zaobserwowano zmian w czasie bezruchu u zwierząt typu knockout po chronicznej iniekcji imipraminą, escitalopramem czy reboksetyną (Ryc. 1B,D niniejszej pracy).

W dalszej kolejności badane były zachowania zwierząt typu dzikiego (GPR<sup>+/+</sup>) oraz typu knockout (GPR39<sup>-/-</sup>) po jednorazowych podaniach imipraminy, MK-801 lub ketaminy. Podobnie jak w przypadku podań chronicznych, jednorazowa dawka wszystkich trzech związków spowodowała istotną redukcję czasu immobilizacji w teście wymuszonego pływania względem soli fizjologicznej u zwierząt typu dzikiego (Ryc. 2A). Myszy pozbawione receptora GPR39 wykazywały niższy czas immobilizacji po MK-801 oraz ketaminie (Ryc. 2B). Nie odnotowano zmian w zachowaniu zwierząt GPR39<sup>-/-</sup> po imipraminie.

**Wnioski:** Wyniki pochodzące z niniejszej pracy stanowią niezwykle istotny dowód na udział receptora GPR39 w mechanizmie działania leków o właściwościach przeciwdepresyjnych. Leki przeciwdepresyjne działające przez systemy monoaminergiczne nie wykazują aktywności przy braku genu GPR39, w przeciwieństwie do związków hamujących receptor NMDA. Niniejsza praca jest dowodem na to, iż **obecność receptora GPR39 jest niezbędna do uzyskania odpowiedzi terapeutycznej leków działających poprzez układy monoaminergiczne.**

P-7. **Młyniec K**, Singewald N, Holst B, Nowak G. GPR39 Zn<sup>2+</sup>-sensing receptor: A new target in antidepressant development? *Journal of Affective Disorders* 2015, 174, 89-100.

(Elsevier; **IF<sub>2014</sub> = 3,705**; MNiSW<sub>2014</sub> = 35 pkt)

Niniejsza praca stanowi podsumowanie dotychczasowej wiedzy na temat receptora GPR39. Postawiono w niej znak zapytania nad receptorem GPR39 jako potencjalnym celem w terapii przeciwdepresyjnej. Przez wzgląd na jej obszerny przegląd literaturowy oraz konkluzje wynikające z prac poprzednich, zostanie ona omówiona poniżej w podrozdziale „DYSKUSJA I PODSUMOWANIE“.



## DYSKUSJA I PODSUMOWANIE

W przedstawionych powyżej pracach będących podstawą habilitacji dowiedziono o udziale cynkowego receptora GPR39 w patomechanizmie depresji oraz mechanizmie działania leków przeciwdepresyjnych. Liczne prace kliniczne, a także przedkliniczne nie pozostawiają wątpliwości o bardzo ważnej roli cynku w chorobie. Wiele niezależnych zespołów wykazało istotnie obniżony poziom cynku u pacjentów depresyjnych względem zdrowych ochotników. Odkąd w 2007 roku udowodniono, że cynk jest naturalnym ligandem receptora GPR39, tym bardziej nasuwało się pytanie o rolę cynkowego receptora w depresji. Zwiększoną ekspresję receptora GPR39 zaobserwowano w strukturach mózgu związanych z emocjami tj. w hipokampie (szczególnie rejon CA3), korze frontalnej czy ciele migdałowatym [12,17], stanowiąc jednocześnie o cynku jako neurotransmiterze działającym poprzez metabotropowy receptor GPR39 w OUN.

W oparciu o wyniki przedstawione w niniejszych pracach (P-1 – P-7) z powodzeniem można wysnuć następujące konkluzje:

- o obniżony poziom receptora GPR39 ma związek z depresją,
- o do wywołania efektu terapeutycznego leków przeciwdepresyjnych działających przez systemy monoaminergiczne niezbędna jest obecność receptora GPR39,
- o GPR39 może być rozpatrywany jako cel potencjalnego leku o właściwościach przeciwdepresyjnych.

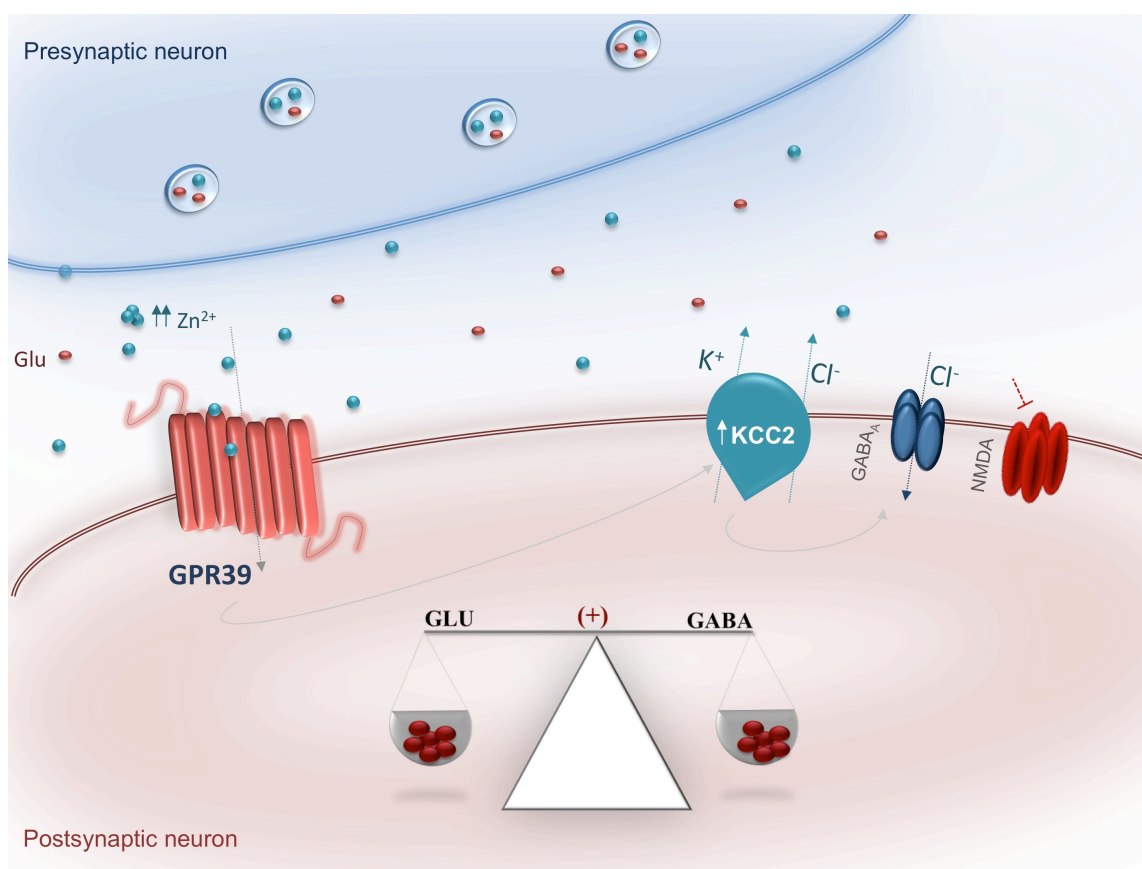
Receptor GPR39 jak wspomniano powyżej działa poprzez trzy różne szlaki neuronalne. Jedną z hipotez tłumaczących udział receptora w depresji jest aktywacja białka CREB, którego obniżony poziom obserwowano w przedklinicznych modelach depresji jak również w stresie. Udowodniono jednocześnie jego podwyższony poziom po lekach przeciwdepresyjnych o różnych mechanizmach działania. Jak przedstawiono na Ryc. 1 niniejszego autoreferatu leki przeciwdepresyjne powodują wzrost poziomu cynku, który zgodnie z teorią Holst i wsp. [11] aktywuje metabotropowy receptor GPR39. Aktywacja receptora z kolei stymuluje produkcję m.in. czynnika CREB, który zwiększa ekspresję neurotropowego czynnika pochodzenia mózgowego BDNF. Również jego istotne znaczenie zostało udowodnione w depresji, a także w odpowiedzi terapeutycznej na leki przeciwdepresyjne. W swoich badaniach udowodniłam obniżony poziom zarówno CREB jak i BDNF w hipokampie, przy jednoczesnej redukcji hipokampalnego poziomu GPR39 w deficycie cynku (praca P-2). Z kolei chroniczne podanie leków także w przedklinicznym

modelu deficytu cynku powodowało istotny wzrost uprzednio obniżonego poziomu wszystkich trzech białek w korze frontalnej myszy (praca P-4 oraz P-5). Co ciekawe w badaniach klinicznych udowodniono wzrost poziomu BDNF oraz redukcję symptomów depresyjnych u pacjentów cierpiących na tę chorobę [18]. Prawdopodobnym zatem jest, że obserwowane neuroprotekcyjne działanie leków (podwyższony poziom CREB i BDNF) może wynikać ze zwiększonej aktywacji receptora GPR39, jednak dokładniejsze badania przyczynowe powinny dodatkowo potwierdzić tę hipotezę. Jednym z dowodów przemawiającym za wiarygodnością tego przypuszczenia jest fakt zredukowanego poziomu białek CREB i BDNF u zwierząt pozbawionych genu dla receptora GPR39 (praca P-2). Ponadto zwiększony poziom obu białek obserwowany jest jako zmiana adaptacyjna przy wystąpieniu efektu terapeutycznego po lekach przeciwdepresyjnych działających przez systemy monoaminergiczne. U zwierząt pozbawionych receptora GPR39 poza wspomnianą redukcją CREB i BDNF, obserwowany był znacząco zredukowany poziom tryptofanu i tyrozyny, aminokwasów, których obniżone stężenia obserwuje się w przebiegu depresji (praca P-3). Co więcej powszechnie stosowane leki przeciwdepresyjne podane zarówno w dawce jednorazowej jak i chronicznej okazały się nieaktywne u zwierząt pozbawionych receptora GPR39 (praca P-6). Wyniki te dają do zrozumienia, że receptor GPR39 odgrywa istotną rolę w patomechanizmie depresji, jak również jest kluczowy w mechanizmie działania leków przeciwdepresyjnych powstałych w oparciu o teorię monoaminergiczną. Co ciekawe, związki hamujące układ glutamatergiczny – antagoniści glutamatergicznego receptora NMDA tj. MK-801 oraz ketamina, podane w dawce jednorazowej lub chronicznej okazały się aktywne u zwierząt pozbawionych receptora GPR39 (praca P-6). Można zatem stwierdzić, że związki hamujące układ glutamatergiczny nie wymagają aktywacji szlaku GPR39/CREB/BDNF. Zgodnie z odkryciem Lindholm i wsp. [19] w przeciwieństwie do leków działających przez układy monoaminergiczne, BDNF nie odgrywa kluczowej roli w działaniu przeciwdepresyjnym związków powstałych w oparciu o glutamatergiczną teorię depresji. W swojej pracy udowodnił, że imipramina nie wykazuje odpowiedzi terapeutycznej u heterozygot BDNF <sup>+/</sup> w przeciwieństwie do typu dzikiego. Z kolei związki działające na transmisję glutamatergiczną tj. ketamina czy LY 451646 były aktywne zarówno u zwierząt typu BDNF <sup>+/+</sup>, jak i BDNF <sup>+/</sup>. Jest to kolejny dowód przemawiający za możliwym powiązaniem receptora GPR39 z białkami CREB i BDNF w odpowiedzi terapeutycznej monoaminergicznych leków przeciwdepresyjnych.

Pomimo obserwowanego efektu przeciwdepresyjnego po związkach hamujących układ glutamatergiczny u zwierząt pozbawionych receptora GPR39, wydaje się on mieć dość istotny wpływ na transmisję glutamatergiczną. Należy podkreślić, że cynk jest antagonistą glutamatergicznego receptora NMDA i w zależności od stężenia, hamuje w sposób toniczny lub całkowity jego otwieranie, co może tłumaczyć przeciwdepresyjne właściwości cynku. Udowodniono bowiem, że antagoniści receptora NMDA wykazują działanie przeciwdepresyjnie nie tylko w badaniach przedklinicznych, ale również w klinice [20–22]. Aktywacja receptora GPR39 natomiast przyczynia się do nasilenia syntezy 2-arachidonoglicerolu (2-AG), który z kolei hamuje uwalnianie glutaminianu. Zgodnie z glutamatergiczną teorią depresji przewaga glutaminianu nad kwasem gamma-aminomasłowym warunkuje wystąpienie choroby. W deficycie cynku obserwuje się znacząco wyższy poziom glutaminianu względem osobników o prawidłowych wartościach pierwiastka [23]. Co więcej, wykazano, że u zwierząt pozbawionych cynkowego receptora GPR39 synteza 2-AG nie jest obecna [24], w związku z powyższym może dochodzić do zaburzenia homeostazy między glutaminianem a GABA. Udowodniono, że podanie cynku manifestuje się redukcją uwalnianego z zakończeń presynaptycznych glutaminianu w sposób zależny od receptora GPR39. Innym dowodem przemawiającym za związkiem GPR39 z układem GABA- i glutamatergicznym jest fakt zwiększonej ekspresji kotransportera potasu i chloru (KCC2) pod wpływem aktywacji GPR39. Mechanizm taki zaobserwowano w rejonie CA3 hipokampa, a więc w miejscu ściśle związanym z plastycznością, bardzo istotną w odpowiedzi terapeutycznej na leki przeciwdepresyjne. Aktywacja receptora GPR39 powodowała up-regulację KCC2, który warunkuje przesunięcie potencjału odwrócenia w stronę wartości ujemnych i nasilenie transmisji hamującej poprzez zwiększony napływ Cl<sup>-</sup> kanałem GABA<sub>A</sub> do komórki powodując hiperpolaryzację [13] (Ryc. 2). GPR39 wydaje się więc pełnić niezwykle istotną rolę w hamowaniu nadmiernej ekscytotoksyczności, szczególnie w rejonie CA3 hipokampa.

W pracy P-3 stanowiącej podstawę habilitacji nie zaobserwowano zmian w poziomie glutaminianu zarówno w hipokampie, jak i korze frontalnej. Może to wynikać z faktu, iż w doświadczeniu mierzony był ogólny poziom glutaminianu w tkance. Niewątpliwie dalsze, bardziej szczegółowe badania będą tu wymagane, możliwym bowiem jest, że obniżony poziom KCC2 u GPR39  $\uparrow$  wynika z podwyższonego wewnątrzkomórkowego stężenia glutaminianu. Dowodem, który przemawiałby za tym, może być pomimo braku zmian w poziomie glutaminianu, obserwowana down-regulacja receptora GPR39 po 10-dniowej

iniekcji kwasem N-metylo-D-asparaginowym, wywołującym ekscytotoksyczość m.in. w rejonie CA3 hipokampa.



Ryc. 2 Receptor GPR39 w glutamatergicznej teorii depresji. Aktywacja receptora GPR39 powoduje up-regulację kotransporteru potasu i chloru (KCC2) powodując przesunięcie potencjału odwrócenia w stronę wartości ujemnych i nasilenie transmisji hamującej poprzez zwiększony napływ Cl<sup>-</sup> kanałem GABA<sub>A</sub> do komórki powodując hiperpolaryzację (z [14], zodyfikowany).

Przytoczone prace, stanowiące podstawę cyklu habilitacyjnego, są w pełni nowatorskie, wnoszące zupełnie nową wiedzę do dyscypliny w obszarze patomechanizmu depresji, jak również leków przeciwdepresyjnych. Jak dotąd, nikt na świecie nie podjął próby analizy cynkowego receptora GPR39 w kontekście depresji. Receptor GPR39 nigdy wcześniej nie był badany po związkach o udowodnionym działaniu przeciwdepresyjnym, jak również w modelach depresji czy u samobójców. Ostatecznie nikt do tej pory nie zastosował zwierząt typu knockout pozbawionych receptora GPR39 w kontekście badań nad depresją.

W 2013 roku po raz pierwszy zsyntetyzowano agonistę receptora GPR39 będącego pochodną piperazyny, który będzie celem moich dalszych badań naukowych.

#### 2.2.4. Piśmiennictwo

- [1] Skolnick P, Popik P, Trullas R. Glutamate-based antidepressants: 20 years on. *Trends Pharmacol Sci* 2009;30:563–9.
- [2] Paul IA, Skolnick P. Glutamate and depression: clinical and preclinical studies. *Ann N Y Acad Sci* 2003;1003:250–72.
- [3] Siwek M, Dudek D, Paul I a, Sowa-Kućma M, Zieba A, Popik P, et al. Zinc supplementation augments efficacy of imipramine in treatment resistant patients: a double blind, placebo-controlled study. *J Affect Disord* 2009;118:187–95.
- [4] McLoughlin IJ, Hodge JS. Zinc in depressive disorder. *Acta Psychiatr Scand* 1990;82:451–3.
- [5] Maes M, Vandoolaeghe E, Neels H, Demedts P, Wauters A, Meltzer HY, et al. Lower serum zinc in major depression is a sensitive marker of treatment resistance and of the immune/inflammatory response in that illness. *Biol Psychiatry* 1997;42:349–58.
- [6] Młyniec K, Davies CL, Budziszewska B, Opoka W, Reczyński W, Sowa-Kućma M, et al. Time course of zinc deprivation-induced alterations of mice behavior in the forced swim test. *Pharmacol Rep* 2012;64:567–75.
- [7] Tassabehji NM, Corniola RS, Alshingiti A, Levenson CW. Zinc deficiency induces depression-like symptoms in adult rats. *Physiol Behav* 2008;95:365–9.
- [8] Whittle N, Li L, Chen W-Q, Yang J-W, Sartori SB, Lubec G, et al. Changes in brain protein expression are linked to magnesium restriction-induced depression-like behavior. *Amino Acids* 2011;40:1231–48.
- [9] Młyniec K, Budziszewska B, Reczyński W, Doboszewska U, Pilc A, Nowak G. Zinc deficiency alters responsiveness to antidepressant drugs in mice. *Pharmacol Rep* 2013;65:579–92.
- [10] Siwek M, Szewczyk B, Dudek D, Styczeń K, Sowa-Kućma M, Młyniec K, et al. Zinc as a marker of affective disorders. *Pharmacol Rep* 2013;65:1512–8.
- [11] Holst B, Egerod KL, Schild E, Vickers SP, Cheetham S, Gerlach L-O, et al. GPR39 signaling is stimulated by zinc ions but not by obestatin. *Endocrinology* 2007;148:13–20.
- [12] Besser L, Chorin E, Sekler I, Silverman WF, Atkin S, Russell JT, et al. Synaptically released zinc triggers metabotropic signaling via a zinc-sensing receptor in the hippocampus. *J Neurosci* 2009;29:2890–901.
- [13] Chorin E, Vinograd O, Fleidervish I, Gilad D, Herrmann S, Sekler I, et al. Upregulation of KCC2 activity by zinc-mediated neurotransmission via the mZnR/GPR39 receptor. *J Neurosci* 2011;31:12916–26.

- [14] Młyniec K, Singewald N, Holst B, Nowak G. GPR39 Zn(2+)-sensing receptor: A new target in antidepressant development? *J Affect Disord* 2015;174C:89–100.
- [15] Porsolt RD, Bertin A, Jalfre M. Behavioral despair in mice: a primary screening test for antidepressants. *Arch Int Pharmacodyn Thérapie* 1977;229:327–36.
- [16] Whittle N, Lubec G, Singewald N. Zinc deficiency induces enhanced depression-like behaviour and altered limbic activation reversed by antidepressant treatment in mice. *Amino Acids* 2009;36:147–58.
- [17] Jackson VR, Nothacker H-P, Civelli O. GPR39 receptor expression in the mouse brain. *Neuroreport* 2006;17:813–6.
- [18] Solati Z, Jazayeri S, Tehrani-Doost M, Mahmoodianfard S, Gohari MR. Zinc monotherapy increases serum brain-derived neurotrophic factor (BDNF) levels and decreases depressive symptoms in overweight or obese subjects: A double-blind, randomized, placebo-controlled trial. *Nutr Neurosci* 2014.
- [19] Lindholm JSO, Autio H, Vesa L, Antila H, Lindemann L, Hoener MC, et al. The antidepressant-like effects of glutamatergic drugs ketamine and AMPA receptor potentiator LY 451646 are preserved in *bdnf*<sup>+/-</sup> heterozygous null mice. *Neuropharmacology* 2012;62:391–7.
- [20] Skolnick P, Popik P, Trullas R. N-Methyl- D -Aspartate ( NMDA ) Antagonists for the Treatment of Depression n.d.:1–20.
- [21] Pilc A, Wierońska JM, Skolnick P. Glutamate-based antidepressants: preclinical psychopharmacology. *Biol Psychiatry* 2013;73:1125–32.
- [22] Wieronska JM, Nowak G, Pilc A. Glutamate-based Therapies for Psychiatric Disorders 2010:157–73.
- [23] Takeda A, Tamano H, Itoh H, Oku N. Attenuation of abnormal glutamate release in zinc deficiency by zinc and Yokukansan. *Neurochem Int* 2008;53:230–5.
- [24] Perez-Rosello T, Anderson CT, Schopfer FJ, Zhao Y, Gilad D, Salvatore SR, et al. Synaptic Zn<sup>2+</sup> Inhibits Neurotransmitter Release by Promoting Endocannabinoid Synthesis. *J Neurosci* 2013;33:9259–72.

### 3. POZOSTAŁE OSIĄGNIĘCIA NAUKOWE

- o łączna suma Impact Factor dla całego dorobku naukowego: **60,264**
- o łączna suma punktów MNiSW dla całego dorobku naukowego: **585**
- o łączna liczba cytowań dla całego dorobku naukowego wg ISI Web of Science z dn. 17.04.2015: **121**
- o Indeks Hirscha dla całego dorobku naukowego wg ISI Web of Science z dn. 17.04.2015: **7**

### 3.1. Działalność naukowa oraz wykaz publikacji przed uzyskaniem stopnia doktora

Moja przygoda z nauką rozpoczęła się już na studiach magisterskich, gdzie wraz z zespołem z Katedry Fizjologii Zwierząt Uniwersytetu Gdańskiego prowadziliśmy badania nad dobowymi zmianami hormonalnymi pod wpływem stresu. Po rozpoczęciu studiów doktoranckich w Katedrze Farmakobiologii Wydziału Farmaceutycznego Uniwersytetu Jagiellońskiego Collegium Medicum, skoncentrowałam się na roli pierwiastków w depresji. Szczególną moją uwagę przykuł cynk, który stał się jednocześnie celem mojej pracy doktorskiej, bowiem istotnie obniżony poziom cynku obserwowany był u pacjentów depresyjnych. Nie wiadomo jednak było czy obniżony poziom pierwiastka może przyczyniać się do rozwoju zachowań depresyjnych, czy być może jest rezultatem istniejącej choroby. W związku z powyższym, moje badania skoncentrowały się nad stworzeniem zwierzęcego modelu deficytu cynku, który manifestowałby się zmianami zarówno behawioralnymi jak i biochemicznymi czy molekularnymi mogącymi przemawiać za deficytem cynku jako czynnikiem wyzwalającym patomechanizm choroby. Na początku studiów doktoranckich miałam okazję odbyć krótki staż w Instytucie Biologii Doświadczalnej im. M. Nenckiego PAN w Warszawie biorąc udział w prowadzonych doświadczeniach z wykorzystaniem technik immunocytochemicznych, histologicznych i behawioralnych.

W trakcie pracy naukowej na Wydziale Farmaceutycznym UJ CM założyłam w Katedrze Farmakobiologii Koło Naukowe, w którym przez kolejne 3 lata pełniłam rolę opiekuna i wraz z którym za prowadzone badania otrzymaliśmy III nagrodę na Międzynarodowej Konferencji Uczelni Medycznych w Krakowie. W toku mojej pracy naukowej, przed otrzymaniem stopnia doktora, zrodziła się istotna współpraca naukowa zarówno krajowa jak i zagraniczna. Przez prawie 4 lata miałam okazję współpracować z Instytutem Farmakologii PAN w Krakowie w ramach grantu europejskiego „Depresja-Mechanizmy-Terapia“, jak również z Akademią Górniczo-Hutniczą w zakresie oznaczania pierwiastków płomieniową atomową spektrometrią absorpcyjną czy metodą całkowitego odbicia promieni X. W ramach współpracy wygłosiłam gościnne seminarium na Wydziale Fizyki AGH doyczące roli cynku w depresji. Również w zakresie badań nad pierwiastkami w depresji zrodziła się współpraca międzynarodowa z Uniwersytetem w Edynburgu oraz Innsbrucku.

Za prowadzone przeze mnie badania oraz ogółem osiągnięcia naukowe otrzymałam dodatkowe stypendium naukowe Wydziału Farmaceutycznego UJ CM oraz Małopolskie

Stypendium Doktoranckie, zaś przedstawione w pracy doktorskiej badania zostały wyróżnione przez Radę Wydziału Farmaceutycznego UJ CM.

- [1] Piotrowska A, **Młyniec K**, Siwek A, Dybała M, Opoka W, Poleszak E, Nowak G. Antidepressant-like effect of chromium chloride in the mouse forced swim test: involvement of glutamatergic and serotonergic receptors. *Pharmacological Reports* 2008, 60, 991-995.  
(IF<sub>2008</sub> = 2,167; MNiSW<sub>2008</sub> = 20 pkt)
- [2] Opoka W, Sowa-Kućma M, Stachowicz K, Ostachowicz B, Szlósarczyk M, Stypuła A, **Młyniec K**, Maślanka A, Baś B, Lankosz M, Nowak G. Early life time zinc supplementation protects zinc-deficient diet-induced alterations. *Pharmacological Reports* 2010, 62, 1211-7.  
(IF<sub>2010</sub> = 2,500; MNiSW<sub>2010</sub> = 20 pkt)
- [3] **Młyniec K**, Siwek A, Dybała M, Bednarski M. Autor rozdziału „Wtórne przekąźniki” w podręczniku: „Biologia z genetyką dla studentów Wydziału Farmaceutycznego”, Tom I, praca zbiorowa pod red. G. Nowaka, Kraków 2010. ISBN 978-83-931818-0-3.

### 3.2. Działalność naukowa oraz wykaz publikacji, innych niż stanowiące podstawę habilitacji, po uzyskaniu stopnia doktora

Od kilku lat moje badania naukowe koncentrują się wokół patomechanizmu depresji, jak również psychofarmakologii. Jestem członkiem Polskiego Towarzystwa Farmaceutycznego, a także członkiem European College of Neuropsychopharmacology. Rozpoczynając bardziej zaawansowane badania nad rolą cynku w depresji udało mi się nawiązać bardzo cenną międzynarodową współpracę z zespołami z Danii oraz Austrii w kontekście receptora GPR39. Po nadaniu stopnia doktora nauk farmaceutycznych, otrzymałam jako kierownik dofinansowanie z Narodowego Centrum Nauki, projektu zatytułowanego „Udział receptora GPR39 w mechanizmie działania leków przeciwdepresyjnych“, którego wyniki w dużej mierze stanowią prace będące podstawą habilitacji. Badania nad rolą cynku i receptora GPR39 w depresji zostały uhonorowane nagrodą komitetu European College of Neuropsychopharmacology, jak również Nagrodą Dziekana Wydziału Farmaceutycznego. Jako asystent, a później adiunkt w Zakładzie Biochemii Toksykologicznej, realizowałam własny projekt statutowy „Udział receptora



GPR39 w patomechanizmie depresji”, którego rezultaty zamieszczone zostały w pracy P-3 cyklu stanowiącego podstawę habilitacji.

W minionym roku kolejny raz otrzymałam dofinansowanie jako kierownik projektu zatytułowanego „Potencjalna rola agonisty receptora GPR39 w chorobie depresyjnej“ (z Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego). W swojej dalszej pracy naukowej zamierzam się skoncentrować nad działaniem przeciwdepresyjnym agonisty receptora GPR39, co zostało opisane w rozdziale 6. niniejszego autoreferatu.

Poza wspomnianą kooperacją zagraniczną, nadal pozostaję we współpracy z Instytutem Farmakologii PAN w Krakowie, Akademią Górniczo-Hutniczą w Krakowie, a także z Warszawskim Uniwersytetem Medycznym.

### 3.2.1. Wykaz publikacji innych niż przedstawione w punkcie 2.1.

- [1] **Młyniec K**, Nowak G. Zinc deficiency induces behavioral alterations in the tail suspension test in mice. *Pharmacological Reports* 2012, 64, 249-55.  
(IF<sub>2012</sub> = 1,965; MNiSW<sub>2012</sub> = 25 pkt)
- [2] **Młyniec K**, Davies CL, Budziszewska B, Opoka W, Reczyński W, Sowa-Kućma M, Doboszevska U, Pilc A, Nowak G. Time course of zinc deprivation-induced alterations of mice behavior in the forced swim test. *Pharmacological Reports* 2012, 64, 567-75.  
(IF<sub>2012</sub> = 1,965; MNiSW<sub>2012</sub> = 25 pkt)
- [3] **Młyniec K**, Budziszewska B, Reczyński W, Sowa-Kućma M, Nowak G. The role of the GPR39 receptor in zinc deficient-animal model of depression. *Behavioural Brain Research* 2013, 1, 30-5. doi: 10.1016/j.bbr.2012.10.020.  
(IF<sub>2013</sub> = 3,391; MNiSW<sub>2013</sub> = 30 pkt)
- [4] **Młyniec K**, Budziszewska B, Reczyński W, Doboszevska U, Pilc A, Nowak G. Zinc deficiency alters responsiveness to antidepressant drugs in mice. *Pharmacological Reports* 2013, 65, 579-592.  
(IF<sub>2013</sub> = 2,165; MNiSW<sub>2013</sub> = 25 pkt)
- [5] Siwek M, Szewczyk B, Dudek D, Styczeń K, Sowa-Kućma M, **Młyniec K**, Siwek A, Witkowski L, Pochwat B, Nowak G. Zinc as a marker of affective disorders. *Pharmacological Reports* 2013, 65, 1512-8.  
(IF<sub>2013</sub> = 2,165; MNiSW<sub>2013</sub> = 25 pkt)

- [6] **Młyniec K**, Davies CL, Gómez de Agüero Sánchez I, Pytka K, Budziszewska B, Nowak G. Essential elements in depression and anxiety. Part I. *Pharmacological reports* 2014, 66, 534-544.  
(IF<sub>2014</sub> = 2,165; MNiSW<sub>2014</sub> = 25 pkt)
- [7] **Młyniec K**, Ostachowicz B, Krakowska A, Reczynski W, Opoka W, Nowak G. Chronic but not acute antidepressant treatment alters serum zinc/copper ratio under pathological/zinc-deficient conditions in mice. *Journal of Physiology and Pharmacology* 2014, 65(5):673-8.  
(IF<sub>2014</sub> = 2,720; MNiSW<sub>2014</sub> = 25 pkt)
- [8] **Młyniec K**, Gawęł M, Doboszevska U, Starowicz S, Pytka K, Davies CL, Budziszewska B. Essential elements in depression and anxiety. Part II. *Pharmacological reports* 2015, 67, 187-194.  
(IF<sub>2014</sub> = 2,165; MNiSW<sub>2014</sub> = 25 pkt)
- [9] Doboszevska U, Sowa-Kućma M, **Młyniec K**, Pochwat B, Hołuj M, Ostachowicz B, Pilc A, Nowak G, Szewczyk B. Zinc deficiency in rats is associated with up-regulation of hippocampal NMDA receptor. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 2015, 56, 254-63.  
(IF<sub>2014</sub> = 4,025; MNiSW<sub>2014</sub> = 35 pkt)
- [10] Wolak M, Siwek A, Szewczyk B, Poleszak E, Bystrowska B, Moniczewski A, Rutkowska A, **Młyniec K**, Nowak G. Evaluation of the role of NMDA receptor function in antidepressant-like activity. A new study with citalopram and fluoxetine in the forced swim test in mice. *Pharmacological reports* 2015, 67, 490-493.  
(IF<sub>2014</sub> = 2,165; MNiSW<sub>2014</sub> = 25 pkt)
- [11] **Młyniec K**. Zinc in the glutamatergic theory of depression. *Current Neuropharmacology* 2015, 13, 1-9.  
(IF<sub>2014</sub> = 2,347; MNiSW<sub>2014</sub> = 35 pkt)
- [12] Doboszevska U, Szewczyk B, Sowa-Kućma M, **Młyniec K**, Rafał A, Ostachowicz B, Lankosz M, Nowak G. Antidepressant activity of fluoxetine in the zinc deficiency model in rats involves the NMDA receptor complex. *Behavioural Brain Research* 2015, 287, 323-330.  
(IF<sub>2014</sub> = 3,391; MNiSW<sub>2014</sub> = 30 pkt)

Wspomniane powyżej, ujęte w punkcie 3.2. prace (n = 12) stanowią:

- o sumę Impact Factor równą **30,629**
- o sumę punktów MNiSW równą **330**

### 3.3. Prowadzenie oraz udział w projektach badawczych

- [1] 2015-2017 **Kierownik** projektu zatytułowanego "Potencjalna rola agonisty receptora GPR39 w chorobie depresyjnej" finansowanego w ramach konkursu Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego Iuventus Plus.
- [2] 08.2012 - 08.2015 **Kierownik** projektu zatytułowanego: „Udział receptora GPR39 w mechanizmie działania leków przeciwdepresyjnych” – OPUS (NCN), nr rej. 2011/03/B/NZ7/01999; K/PBO/000106.
- [3] 04.2010-01.2014 **Wykonawca** międzynarodowego projektu realizowanego w Instytucie Farmakologii PAN w Krakowie: „Depresja-mechanizmy-terapia”, Europejski Fundusz Rozwoju w ramach Europejskiego Programu Operacyjnego Innowacyjna Gospodarka, POIG.01.01.02-12-004/09-00.
- [4] 2014 **Kierownik** projektu statutowego "Udział receptora GPR39 w patomechanizmie depresji", nr: K/ZDS/004699

### 3.4. Promotorstwo pomocnicze w przewodach doktorskich

- [1] Promotor pomocniczy w przewodzie doktorskim mgr Urszuli Doboszewskiej na Wydziale Farmaceutycznym UJ CM Katedry Farmakobiologii, pracy zatytułowanej: „Rola szlaku kinazy syntazy glikogenu 3 beta w mechanizmie działania leków przeciwdepresyjnych”.
- [2] Promotor pomocniczy w przewodzie doktorskim mgr Magdaleny Gaweł na Wydziale Farmaceutycznym UJ CM Zakładu Radioligandów, pracy zatytułowanej: „Wpływ jonów cynku na aktywność niektórych niesterydowych leków przeciwzapalnych (NLPZ)”

### 3.5. Udział w szkoleniach, konferencjach krajowych i międzynarodowych, w tym spis komunikatów zjazdowych

#### 3.5.1. Spis komunikatów zjazdowych

- [1] Piotrowska A, **Młyniec K**, Siwek A, Dybała M, Nowak G. Evaluation of antidepressant NA/5-HT profile of Cr III in the FST in rats. The XVIII International Symposium of the Polish Network of Molecular and Cellular Biology, Kraków, 2009.
- [2] Gruszecka A, Sitek B, Jasińska J, Siwek M, **Młyniec K**, Nowak G. Teorie depresji: przeszłość, terażniejszość, przyszłość. II Ogólnopolska Neurokonferencja "Neuronus", Kraków, 2009.
- [3] Gawel M, Frackiewicz E, Świątek J, Ciucias K, Kolarz A, Gomez de Agüero Sanchez I, **Młyniec K**, Nowak G. Wpływ deficytu cynku na rozwój zachowań depresyjnych. III Ogólnopolska Neurokonferencja "Neuronus", Kraków, 2010.
- [4] **Młyniec K**, Nowak G. Time course of zinc deprivation induced alterations of mice behavior in forced swim test and tail suspension test. 12th International Neuroscience Winter Conference w Soelden, Austria, 2010.
- [5] **Młyniec K**, Nowak G. Pro-depressive behavior under 2, 4 and 10-week zinc deficiency diet and its correlation with corticosterone concentration in mice. XVII Międzynarodowy Zjazd Polskiego Towarzystwa Farmakologicznego, KrynicaZdrój, 2010.
- [6] **Młyniec K**, Budziszewska B, Reczyński W, Nowak G. Zinc deficiency and depression. 9th Goettingen Meeting of the German Neuroscience Society, Goettingen, Niemcy, 2011.
- [7] **Młyniec K**, Doboszevska U, Budziszewska B, Reczyński W, Nowak G. Zinc deficiency and hyperactivation of HPA axis in treatment resistant depression. International Forum on Mood and Anxiety Disorders, Budapeszt, Węgry, 2011.
- [8] **Młyniec K**, Doboszevska U, Nowak G. Zinc deficiency induces treatment-resistant depression, 10th World Congress of Biological Psychiatry, Praga, Czechy, 2011.
- [9] Szewczyk B, Sowa-Kućma M, **Młyniec K**, Nowak G. Olfactory bulbectomy and zinc deficiency influences BDNF expression in the rat and mouse brain cortex. 8th IBRO World Congress of Neuroscience. Florencja, Włochy, 2011.

- [10] **Młyniec K**, Budziszewska B, Reczyński W, Nowak G. Depression-like symptoms and neurodegeneration under zinc-deficient conditions. 25th ECNP (European College of Neuropsychopharmacology) Congress, Vienna, Austria, 2012.
- [11] Doboszevska U, Szewczyk B, Sowa-Kućma M, **Młyniec K**, Nowak G. The disruption of CREB/ BDNF/ TrkB signaling. Dynamic changes induced by zinc deficiency. Międzynarodowy Zjazd Polskiego Towarzystwa Farmakologicznego. Kazimierz Dolny, 2013.
- [12] Doboszevska U, Szewczyk B, Sowa-Kućma M, **Młyniec K**, Nowak G. The role of CREB/ BDNF/ TrkB signaling in the zinc deficiency model of depression. European College of Neuropsychopharmacology, Nicea, Francja, 2013.
- [13] **Młyniec K**, Doboszevska U, Budziszewska B, Nowak G. The involvement of the GPR39-Zn<sup>2+</sup>-sensing receptor in CREB, BDNF and TrkB pathway in pathomechanism of depression, Monachium, Niemcy, 2013.
- [14] **Młyniec K**, Doboszevska U, Budziszewska B, Nowak G. The role of the GPR39-Zn<sup>2+</sup>-sensing receptor in pathomechanism of depression. Barcelona, Hiszpania, 2013.
- [15] **Młyniec K**, Doboszevska U, Budziszewska B, Nowak G. The involvement of the GPR39-Zn<sup>2+</sup>-sensing receptor in CREB, BDNF and TrkB pathway in pathomechanism of depression. European Brain Behaviour Society Meeting, Monachium, Niemcy, 2013.
- [16] Drozdowicz E, Skrzyszewski J, Ryszewska-Pokaśniewicz B, Skalski M, Matsumoto H, **Młyniec K**, Nowak G, Pilc A, Radziwoń-Zaleska M. XVI World Congress of Psychiatry, Madryt, Hiszpania, 2014.
- [17] **Młyniec K**, Budziszewska B, Skrzyszewski J, Holst B, Nowak G. Zinc deficiency versus GPR39-zinc receptor knockout mice in the pathophysiology of depression. European College of Neuropsychopharmacology, Berlin, Niemcy, 2014.
- [18] **Młyniec K**, Gaweł M, Doboszevska U, Skrzyszewski J, Nowak G. GPR39 zinc receptor and depression in preclinical studies. Biological Psychiatry, Ateny, Grecja, 2015.

### 3.5.2. Udział w krajowych i międzynarodowych konferencjach

---

\* czynny udział w postaci prezentacji badań

1. 8th Young Active Research Meeting, Würzburg, Niemcy, 2006
2. \*II Ogólnopolska Neurokonferencja "Neuronus", Kraków, 2009;
3. I Konferencja Psychoonkologii Praktycznej "Nie tylko leki leczą", Stowarzyszenie wspierania Onkologii UNICORN, Krakow, 2009;
4. 9 Międzynarodowy Kongres Polskiego Towarzystwa Badań nad Układem Nerwowym, Warszawa, 2009;
5. XXVI Szkoła Zimowa Instytutu Farmakologii PAN "Pobudzające aminokwasy III", Krakow, 2009;
6. \*III Ogólnopolska Neurokonferencja "Neuronus", Kraków, 2010;
7. \*12<sup>th</sup> International Neuroscience Winter Conference w Soelden, Austria, 2010;
8. \*XVII Międzynarodowy Zjazd Polskiego Towarzystwa Farmakologicznego, Krynica Zdrój, 2010;
9. Konferencja pod patronatem Okręgowej Izby Lekarskiej w Krakowie "Wygrać z depresją", Krakow, 2010;
10. XXVII Szkoła Zimowa Instytutu Farmakologii PAN "Rytm w ośrodkowym układzie nerwowym", 2010, 2010;
11. \*9<sup>th</sup> Goettingen Meeting of the German Neuroscience Society, Goettingen, Niemcy, 2011;
12. \*International Forum on Mood and Anxiety Disorders, Budapeszt, Węgry, 2011;
13. \*10<sup>th</sup> World Congress of Biological Psychiatry, Praga, Czechy, 2011;
14. XXVIII Szkoła Zimowa Instytutu Farmakologii PAN "Zaawansowane metody badania mózgu", Krakow, 2011;
15. \*25<sup>th</sup> ECNP (European College of Neuropsychopharmacology) Congress, Wiedeń, Austria, 2012 (Travel Award);
16. 4th International Symposium "Mental Health in Developing Countries", Monachium, Niemcy, 2012;
17. XXIX Szkoła Zimowa Instytutu Farmakologii PAN "Glej", Krakow, 2012;

18. \*45<sup>th</sup> European Brain and Behaviour Society Meeting, Monachium, Niemcy, 2013;
19. \*26<sup>th</sup> European College of Neuropsychopharmacology Congress, Barcelona, Hiszpania, 2013;
20. XIX konferencja szkoleniowo-naukowa z cyklu „Farmakoterapia, psychoterapia i rehabilitacja zaburzeń afektywnych” 2014, Zakopane, Polska
21. \*27<sup>th</sup> European College of Neuropsychopharmacology Congress, Berlin, Niemcy, 2014;
22. XXXI Szkoła Zimowa Instytutu Farmakologii PAN w Krakowie "Depresja i leki przeciwdepresyjne", Kraków, 2014;
23. XX konferencja szkoleniowo-naukowa z cyklu „Farmakoterapia, psychoterapia i rehabilitacja zaburzeń afektywnych”, Zakopane, Polska, 2015

Ponadto: Wygłoszenie gościnnego seminarium na Wydziale Fizyki i Informatyki Stosowanej AGH (Katedra Fizyki Medycznej i Biofizyki), zatytułowanego: „Znaczenie cynku w depresji“, Kraków, 2013.

### 3.5.3. Przebyte szkolenia i kursy

1. Seminarium z cyklu AWANSE NAUKOWE „Uwarunkowania prawne i organizacyjne postępowań habilitacyjnych“, Warszawa, 2014;
2. Udział w projekcie „Stáže międzynarodowe dla kadry dydaktycznej” w ramach "Pro bono Collegii Medici Universitatis Jagiellonicae" współfinansowanego ze środków Unii Europejskiej w ramach Europejskiego Funduszu Społecznego, Uniwersytet Ludwiga Maximiliana w Monachium, Niemcy (2012), kursy odbyte w ramach stażu:
  - Metody praktyczne uwrażliwiania studentów na różnice kulturowe,
  - Ocenianie studentów i opracowywanie testów,
  - Opracowywanie egzaminów ustnych i OSCE,
  - Nauczanie w oparciu o problem,
  - Pisanie przypadków,
  - Zasady udzielania informacji zwrotnej,
  - Jak prowadzić seminarium,
  - Nauczenie "Standaryzowany pacjent",
  - Projekty w Edukacji Medycznej,
  - Etyka w edukacji.

3. Udział w projekcie „Język angielski specjalistyczny” w ramach „Pro bono Collegii Medici Universitatis Jagiellonicae” współfinansowanego ze środków Unii Europejskiej w ramach Europejskiego Funduszu Społecznego (2012/13);
4. Szkolenie z zakresu „Pisania tekstów naukowych” prowadzone przez Jeana-Luca Lebruna w ramach Programu Operacyjnego Kapitał Ludzki, Projekt Skills, Fundacja Nauki Polskiej, 2013.

### 3.6. Recenzje prac naukowych

- o Recenzent publikacji w następujących czasopismach
  - Metallomics, IF<sub>2014</sub> = 3,978
  - Amino Acids, IF<sub>2014</sub> = 3,653
  - Cellular and Molecular Neurobiology, IF<sub>2014</sub> = 2,201
  - Food and Function, IF<sub>2014</sub> = 2,907
  - Neuroscience letters, IF<sub>2014</sub> = 2,055
  - Current Neuropharmacology (dwukrotnie) , IF<sub>2014</sub> = 2,347
  - Pharmacological Reports, IF<sub>2014</sub> = 2,165
  - Journal of Trace Elements in Medicine and Biology, IF<sub>2014</sub> = 2,491
  - Journal of Basic & Applied Sciences
- o Recenzent wniosku o grant – Croatian Science Foundation, 2015
- o Recenzent pracy doktorskiej zatytułowanej „Effects of antidepressants on stress mediated neurochemical and endocrinological changes in rats“ (Uniwersytet w Karaczi, Pakistan), 2012;
- o Recenzent pracy doktorskiej zatytułowanej „Antidepressants in relation to neurochemical and behavioral effects of nicotine administration and subsequent withdrawal“ (Uniwersytet w Karaczi, Pakistan), 2014.

### 3.7. Staże naukowe i dydaktyczne krajowe i zagraniczne

- o lipiec 2008 – staż naukowy w Pracowni Neurobiologii Molekularnej w Instytucie Biologii Doświadczalnej im. M. Nenckiego Polskiej Akademii Nauk w Warszawie
- o 2010-2014 – staż naukowy w Zakładzie Neurobiologii w Instytucie Farmakologii Polskiej Akademii Nauk w Krakowie



- o listopad 2011 – staż naukowo-dydaktyczny na Uniwersytecie Ludwiga Maximiliana w Monachium, Niemcy w ramach projektu „Staż międzynarodowe dla kadry dydaktycznej”, „Pro bono Collegii Medici Universitatis Jagiellonicae”, współfinansowanego ze środków Unii Europejskiej w ramach Europejskiego Funduszu Społecznego
- o maj-czerwiec 2015 – staż naukowy na Uniwersytecie w Innsbrucku, Austria

### 3.8. Współpraca naukowa krajowa i zagraniczna

#### 3.8.1. Współpraca krajowa

- o Instytut Farmakologii Polskiej Akademii Nauk, Zakład Neurobiologii
- o Instytut Farmakologii Polskiej Akademii Nauk, Zakład Neuroendokrynologii Eksperymentalnej
- o Warszawski Uniwersytet Medyczny
- o Akademia Górniczo-Hutnicza w Krakowie, Wydział Fizyki i Informatyki Stosowanej, Katedra Fizyki Medycznej i Biofizyki
- o Akademia Górniczo-Hutnicza w Krakowie, Wydział Inżynierii Materiałowej i Ceramiki, Katedra Chemii Analitycznej

#### 3.8.2. Współpraca zagraniczna

- o Uniwersytet w Innsbrucku (Austria), Centrum Chemii i Biomedycyny
- o Uniwersytet w Kopenhadze (Dania), Katedra Neuronauki i Farmakologii
- o Uniwersytet w Edynburgu (Szkocja, UK), The Roslin Institute & Royal (Dick) School of Veterinary Studies, Oddział Neurobiologii

#### 3.8.3. Przynależność do organizacji naukowych

- o od 2009 członek Polskiego Towarzystwa Farmaceutycznego
- o od 2014 członek European College of Neuropsychopharmacology

#### 4. NAGRODY I WYRÓŻNIENIA

- o 2009 Małopolskie Stypendium Doktoranckie za osiągnięcia naukowe (Zintegrowany Program Operacyjny Rozwoju Regionalnego 2004-2006)
- o 2011 wyróżnienie rozprawy doktorskiej, Wydział Farmaceutyczny UJ CM
- o 2011 III Nagroda na Międzynarodowej Konferencji Uczelni Medycznych, Kraków, (rola opiekuna koła studenckiego)
- o 2012 Travel Award, European College of Neuropsychopharmacology, Wiedeń, Austria
- o 2013 Nagroda Dziekana Wydziału Farmaceutycznego za osiągnięcia naukowe

#### 5. DZIAŁALNOŚĆ DYDAKTYCZNA I ORGANIZACYJNA

- 2008-2011      Założenie i prowadzenie Koła Naukowego Farmakobiologów przy Katedrze Farmakobiologii Wydziału Farmaceutycznego UJ CM (rola opiekuna naukowego Koła), w ramach którego nauczane było:
- jak prowadzić badania naukowe (w przypadku zagadnień Koła z zakresu roli pierwiastków w depresji);
  - jak przygotować się do wystąpień naukowych, jak pisać streszczenia oraz jak przygotować poster na konferencje;
  - jak przygotować i napisać publikację;
- 2010            Czynny udział wraz z Kołem Farmakobiologów (rola opiekuna koła) na Festiwalu Nauki – promowanie żywności bogatej w cynk (projekt „Cynk na talerzu“).
- 2010            Autor rozdziału „Wtórne przekaźniki” w podręczniku: „Biologia z genetyką dla studentów Wydziału Farmaceutycznego”, Tom I, praca zbiorowa pod red. G. Nowaka, Kraków 2010. ISBN 978-83-931818-0-3.
- 2007-2011      Sprawowanie opieki nad studentami w ramach programu Erasmus Socrates m.in. z Hiszpanii, Wielkiej Brytanii oraz Turcji

- 2012 Poszerzenie wiedzy dydaktycznej w oparciu o kursy odbyte na stażu dydaktycznym na Uniwersytecie Ludwiga Maximiliana w Monachium (kursy wymienione w punkcie 3.5.3. autoreferatu)
- 2007-2015 Prowadzenie zajęć dydaktycznych (seminaria oraz ćwiczenia) przedmiotów:  
Biologia z genetyką, Endokrynologia:
- przygotowanie materiałów audiowizualnych do zajęć z zakresu endokrynologii,
  - przygotowanie praktyczne do ćwiczeń, w tym tworzenie instrukcji,
  - wprowadzenie nowych technik nauczania w oparciu o wiedzę zdobytą na stażu dydaktycznym w Monachium,
  - opracowanie zestawów egzaminacyjnych z przedmiotu Endokrynologia,
- 2015 Opracowanie zaakceptowanych dwóch fakultetów dla studentów studiów doktoranckich Wydziału Farmaceutycznego UJ CM
- 2011-2015 Opiekun 7 prac magisterskich na Wydziale Farmaceutycznym UJ CM
- 2011-2015 Recenzent 3 prac magisterskich na Wydziale Farmaceutycznym UJ CM oraz 1 pracy magisterskiej na Wydziale Fizyki i Informatyki Stosowanej
- od 2014 Członek Międzyzakładowej Komisji NSZZ Solidarność UJ CM

## 6. DALSZY PLANY BADAWCZE

Na chwilę obecną kontynuuję badania nad rolą receptora GPR39 w patomechanizmie depresji, jak również mechanizmie działania leków przeciwdepresyjnych. Dalsze doświadczenia w tym zakresie mają udzielić odpowiedzi na pytanie o biochemiczne oraz molekularne podłoże lekooporności u zwierząt pozbawionych receptora GPR39. Jak się bowiem okazuje, leki przeciwdepresyjne, których mechanizm prawdopodobnie związany jest z układem monoaminergicznym, nie wykazują działania u tych zwierząt w behawioralnych testach przedklinicznych, w przeciwieństwie do leków opartych na teorii glutamatergicznej. Dzięki otrzymaniu dofinansowania z Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego projektu Iuventus Plus, w najbliższym czasie zamierzam skoncentrować się na roli agonisty receptora GPR39 w działaniu przeciwdepresyjnym oraz przeciwlękowym w przedklinicznych testach behawioralnych. Planowane są także badania biochemiczne i molekularne w strukturach związanych z procesami emocjonalnymi, tj. hipokamp, kora frontalna, ciało migdałowe po podaniach agonisty cynkowego receptora GPR39. Pozytywne rezultaty zaplanowanych badań mogą przyczynić się w rozumieniu perspektywistycznym do potencjalnego wykorzystania agonistów receptora GPR39 w farmakoterapii depresji.

