Kraków dn. 2015-07-14

Prof. dr hab. Barbara Filipek
Katedra Farmakodynamiki
Wydziału Farmaceutycznego CM UJ
ul. Medyczna 9, 30-688 Kraków

OCENA

całokształtu dorobku naukowego, monotematycznego cyklu prac stanowiącego podstawę habilitacji pt.: *„Udział receptora GPR39 w patomechanizmie depresji oraz mechanizmie działania leków przeciwdepresyjnych"* oraz działalności dydaktyczno-organizacyjnej dr n. farm. Katarzyny Młyniec, adiunkta w Katedrze Farmakobiologii Wydziału Farmaceutycznego Uniwersytetu Jagiellońskiego Collegium Medicum w Krakowie.

W związku powołaniem przez Centralną Komisję do Spraw Stopni i Tytułów, na podstawie art. 18 ust. 5 ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. z 2003 r., nr 65, poz. 595, Dz. U. z 2005 r., nr 164, poz. 1365, Dz. U. z 2011 r., nr 84, poz. 455) oraz pismem Dziekana Wydziału Farmaceutycznego UJ CM przedstawiam ocenę całokształtu dorobku naukowego oraz cyklu prac stanowiących podstawę habilitacji, jak również osiągnięć dydaktyczno-organizacyjnych dr n. farm. Katarzyny Młyniec, ubiegającej się o nadanie stopnia doktora habilitowanego w dziedzinie nauk farmaceutycznych.

Niniejsza ocena została przygotowana na podstawie kompletu materiałów przesłanych przez Dziekana Wydziału Farmaceutycznego UJ CM dotyczących Habilitantki.

1. Dane osobowe oraz rozwój naukowy i zawodowy

Dr n. farm. Katarzyna Młyniec urodziła się w Giżycku, gdzie uczęszczała do I Liceum Ogólnokształcącego. Po ukończeniu Liceum o profilu biologiczno-chemicznym i zdaniu matury, rozpoczęła 5-letnie studia magisterskie na Wydziale Biologii, Geografii i Oceanologii Uniwersytetu Gdańskiego, specjalność: biologia eksperymentalna, które ukończyła w roku 2005 r. W czasie studiów odbyła półroczny staż na Wydziale Biologii i Nauk o Ziemi Uniwersytetu Jagiellońskiego. Po obronie pracy magisterskiej podjęła 2-u semestralne studia podyplomowe „Farmacja przemysłowa" na Wydziale Farmaceutycznym Collegium Medicum UJ. W roku 2007 rozpoczęła studia doktoranckie na Wydziale Farmaceutycznym UJ CM w Katedrze Farmakobiologii. Pracę doktorską pt. : *„Neurobiologiczne i behawioralne aspekty niedoboru cynku w depresji"* (promotor: prof. dr hab. Gabriel Nowak) obroniła z wyróżnieniem w roku 2011. Podczas studiów doktoranckich odbyła miesięczny staż w Instytucie Biologii Doświadczalnej PAN im. M. Nenckiego w Warszawie. Od kwietnia 2010 roku do początku 2014 roku pracowała na ½ etatu jako pracownik inżynieryjno-techniczny w Zakładzie Neurobiologii Instytutu Farmakologii Polskiej Akademii Nauk w Krakowie. Po uzyskaniu stopnia doktora nauk farmaceutycznych została zatrudniona początkowo na etacie asystenta, później adiunkta, w Zakładzie Biochemii Toksykologicznej Katedry Toksykologii Wydziału Farmaceutycznego UJ CM. W 2012 roku przebywała na miesięcznym stażu dydaktycznym w Uniwersytecie Ludwiga Maximiliana w Monachium w ramach projektu „Pro bono Collegii Medici Universitatis Jagiellonicae" finansowanego ze środków Europejskiego Funduszu Społecznego. Od stycznia 2015 roku dr Katarzyna Młyniec jest adiunktem w Katedrze Farmakobiologii Wydziału Farmaceutycznego UJ CM.

2. Ocena dorobku naukowego

Początków pracy naukowej dr Katarzyny Młyniec można się już doszukiwać podczas studiów magisterskich, gdzie z zespołem Katedry Fizjologii Zwierząt Uniwersytetu Gdańskiego prowadziła badania nad dobowymi zmianami hormonalnymi pod wpływem stresu. Po podjęciu studiów doktoranckich w Katedrze Farmakobiologii Wydziału Farmaceutycznego UJ CM włączyła się w badania prowadzone w tej jednostce dotyczące roli pierwiastków w depresji. Badania naukowe dr Katarzyny Młyniec koncentrują się wokół patomechanizmu depresji oraz roli cynku i receptora GPR39 w depresji. Przyczyny depresji są wyjątkowo złożone i do końca niepoznane. Wśród wielu hipotez wymienia się: deficyt monoamin w mózgu, aktywację układu wtórnych przekaźników, dysregulację układu neurohormonalnego podwzgórze-przysadka-nadnercza (PPN), czy hiperaktywność układu glutamatergicznego, w którym bardzo ważną rolę modulującą odgrywają jony cynku. Cynk jest silnym antagonistą receptora NMDA i podobnie jak inne substancje hamujące funkcję tego receptora, wykazuje aktywność przeciwdepresyjną w testach i modelach depresji u zwierząt (test wymuszonego pływania, test zawieszenia za ogon). U pacjentów depresyjnych obserwowany jest obniżony poziom cynku, nie wiadomo jednak, czy obniżony poziom tego pierwiastka może przyczyniać się do rozwoju zachowań depresyjnych, czy być może jest rezultatem istniejącej choroby. Dlatego badania Habilitantki skupiły się nad stworzeniem zwierzęcego modelu deficytu cynku, który manifestowałby się zmianami behawioralnymi u myszy w teście wymuszonego pływania oraz w teście zawieszenia za ogon, jak i zmianami biochemicznymi (stężenie cynku i kortykosteronu oraz poziomu białka BDNF i receptora GPR39 w korze mózgowej). W następnym etapie badań dr Katarzyna Młyniec podjęła próbę określenia wpływu wybranych leków przeciwdepresyjnych, tj.: imipramina, escitalopram, bupropion i reboksetyna, po jednorazowym i chronicznym podaniu na zmiany behawioralne u myszy z obniżoną zawartością cynku oraz poddanych diecie bezcynkowej. W badaniach tych wykazała, że leki przeciwdepresyjne normalizują obniżony dietą poziom cynku w surowicy krwi zwierząt, jak również udowodniła, że deficyt cynku powoduje obniżenie poziomu BDNF i receptora GPR39 w korze frontalnej, co może przyczyniać się do utraty komórek nerwowych oraz świadczyć o szczególnej roli cynku patomechanizmie depresji. Uzyskane wyniki były przedmiotem pracy doktorskiej Habilitantki, obronionej z wyróżnieniem.

Badania nad rolą cynku i receptora GPR39 w depresji zostały uhonorowane nagrodą Komitetu European College of Neuropsychopharmacology oraz Nagrodą Dziekana Wydziału Farmaceutycznego.

Rezultaty działalności naukowej dr Katarzyny Młyniec , nie będące przedmiotem habilitacji, zostały upowszechnione w 11 publikacjach oryginalnych oraz 3 pracach poglądowych. Zdecydowana większość tych prac została opublikowana po uzyskaniu stopnia doktora nauk farmaceutycznych (12 prac). Przed uzyskaniem stopnia doktora jest współautorem 2 publikacji oryginalnych i jednego rozdziału w podręczniku dla studentów „Wtórne przekaźniki". Łączna punktacja tych prac wg list MNiSW wynosi 370, a współczynnik impact factor = 35,296.

Łącznie dr Katarzyna Młyniec jest współautorem 22 prac oryginalnych, w tym 4 przeglądowych i 1 rozdziału w podręczniku krajowym o łącznym współczynniku *impact factor* = 60,264, co przekłada się na 585 punktów wg KBN/MNiSW. Habilitantka w 9 pracach występuje jako pierwszy autor. Łączna liczba cytowań dla dorobku wchodzącego i niewchodzącego w skład osiągnięcia naukowego wg bazy Web of Science Core Collection wynosi 123, a indeks Hirscha wynosi 7.

Udowodnienie, że jony cynku Zn2+ są aktywatorami metabotropowego receptora GPR39, którego zwiększoną ekspresję zaobserwowano w hipokampie, korze frontalnej oraz ciele migdałowatym, czyli miejscach związanych z emocjami, nasuwa pytanie o rolę receptora GPR39 w

patomechanizmie depresji oraz mechanizmie działania leków przeciwdepresyjnych. Aby odpowiedzieć na postawione pytanie Habilitantka podjęła dalsze badania, które zaowocowały monotematycznym cyklem publikacji stanowiących podstawę habilitacji.

3. Ocena dorobku naukowego stanowiącego szczególne osiągnięcie naukowe

Przedstawionym do oceny osiągnięciem naukowym stanowiących podstawę habilitacji jest monotematyczny cykl publikacji zatytułowany *„Udział receptora GPR39 w patomechanizmie depresji oraz mechanizmie działania leków przeciwdepresyjnych"*. Na ten cykl składa się 7 prac, w tym 6 prac oryginalnych i jedna przeglądowa, opublikowanych w latach 2013-2015. Wszystkie prace, zostały opublikowane w prestiżowych, anglojęzycznych czasopismach z listy filadelfijskiej. Ich sumaryczny *impact factor* (IF) według listy *Journal Citation Reports* (JCR), zgodnie z rokiem opublikowania, wynosi 24,968; punktacja wg list MNiSW = 215. Chociaż w pracach tych dr Katarzyna Młyniec nie jest jedynym autorem, to na podkreślenie zasługuje fakt, że we wszystkich jest pierwszym autorem o dominującym udziale w projektowaniu i wykonaniu. Współautorzy publikacji składających się na dorobek objęty postępowaniem habilitacyjnym w stosownych oświadczeniach oszacowali swój udział na 10-40 %, co oznacza, że udział dr Katarzyny Młyniec w opracowywaniu koncepcji, wykonaniu części eksperymentalnej i przygotowaniu prac do druku w większości przypadków był kluczowy.

Celem przedstawionego cyklu publikacji stanowiącego podstawę habilitacji dr Katarzyny Młyniec był udział cynkowego receptora GPR39 w patomechanizmie depresji oraz mechanizmie działania leków przeciwdepresyjnych. Aby określić udział receptora GPR30 w depresji, dr Katarzyna Młyniec zbadała:

- ekspresję receptora GPR39 w hipokampie i korze frontalnej myszy oraz szczurów po diecie z deficytem cynku,
- ekspresję receptora GPR39 w hipokampie i korze frontalnej szczurów po usunięciu opuszek węchowych,
- aktywność behawioralną zwierząt pozbawionych receptora GPR39 *(GPR39 knockout)*
- poziom tryptofanu, tyrozyny oraz glutaminianu w hipokampie i korze frontalnej u myszy pozbawionych receptora GPR39
- ekspresję receptora GPR39 po zablokowaniu transmisji serotoninergicznej, noradrenergicznej i dopaminergicznej oraz nasileniu transmisji glutamatergicznej
- ekspresję receptora GPR39 w korze frontalnej po przewlekłym podawaniu leków przeciwdepresyjnych takich jak: imipramina, escitalopram, reboksetyna, bupropion u myszy karmionych dietą prawidłową oraz z obniżoną zawartością cynku
- aktywność behawioralną u myszy pozbawionych receptora CPR39 po przewlekłym podawaniu imipraminy, escitalopramu, reboksetyny, MK-801 oraz po jednorazowym podaniu imipraminy, MK-801 lub ketaminy,
- a także ekspresję receptora GPR39 w hipokampie i korze frontalnej samobójców.

Dr Katarzyna Młyniec wykazała, że 6-tygodniowa dieta z niską zawartością cynku skutkuje obniżeniem poziomu tego pierwiastka w surowicy krwi oraz wydłużeniem czasu bezruchu w teście wymuszonego pływania względem zwierząt kontrolnych. Co więcej, deficyt cynku powoduje istotną redukcję hipokampalnego i kortykalnego receptora GPR39 u myszy i szczurów. Podobna down-regulacja receptora CPR39 ma miejsce w hipokampie i korze frontalnej samobójców, co potwierdzałoby istotną rolę cynkowego receptora GPR39 w patomechanizmie depresji. Aby w pełni

wyjaśnić udział receptora GPR39 w depresji, w kolejnym etapie badań Habilitantka wykorzystała myszy z usuniętym genem tego receptora. Brak receptora GPR39 u myszy powodował wydłużenie czasu immobilizacji w standardowym i zmodyfikowanym teście wymuszonego pływania, jak i teście zawieszenia za ogon oraz istotną redukcję wejść do przedziału jasnego, redukcję liczby przecinania linii i wzrost czasu immobilizacji w teście light/dark. Zatem brak receptora GPR39 u myszy powodował zachowania depresyjne z komponentą lękową. Przeprowadzona analiza szlaku CREB/BDNF/TrkB mogącego mieć potencjalny związek z aktywnością receptora GPR39 wykazała, że myszy pozbawione receptora GPR39 mają niższy poziom białek CREB i BDNF w hipokampie, co sugeruje bezpośredni ich związek z receptorem. W przeciwieństwie do deficytu cynku Habilitantka nie odnotowała - względem typu dzikiego - zmian w aktywności osi podwzgórze-przysadka-nadnercza (PPN) u zwierząt pozbawionych receptora GPR39. Uzyskane wyniki sugerują, że obserwowany depresyjny behawior u zwierząt pozbawionych receptora GPR39 nie może wynikać ze zmian aktywności osi PPN, odgrywającej istotną rolę w przebiegu reakcji stresowej. Zablokowanie układu serotoninergicznego poprzez 10 dniowe podania p-chlorofenyloalaniny (pCPA), układu noradrenergicznego i dopaminergicznego poprzez chroniczne podania alfa-metylotyrozyny (αMT) lub pobudzenie układu glutamatergicznego poprzez podania kwasu N-metylo-D-asparaginowego (NMDA) powodowały istotną redukcję receptora GPR39 w hipokampie. Zaś myszy pozbawione genu receptora GPR39 z kolei wykazywały znamiennie niższy poziom tryptofanu i tyrozyny. Wyniki te wskazują na ścisły związek neurotransmisji serotoninergicznej, noradrenergicznej, dopaminergicznej oraz glutamatergicznej z receptorem GPR39. W dalszych badaniach Habilitantka wykazała, że przewlekłe, dootrzewnowe podawanie leków przeciwdepresyjnych o różnych mechanizmach działania (imipramina, escitalopram, reboksetyna, bupropion) prowadzi do istotnej up-regulacji receptora GPR39 po podaniach escitalopramu, reboksetyny oraz bupropionu, czyli selektywnych leków przeciwdepresyjnych, ale nie po iniekcji imipraminy. Dr Katarzyna Młyniec wykazała również, że jednorazowe podania w/w leków przeciwdepresyjnych u zwierząt z deficytem cynku powodowały istotną down-regulację receptora GPR39, a chroniczne ich podawanie prowadziło do istotnej up-regulacji receptora GPR39 w korze frontalnej myszy. Uzyskane wyniki wskazują na receptor GPR39 jako potencjalny cel terapii przeciwdepresyjnej. Ponadto uzyskane przez Habilitantkę wyniki wskazują, że przewlekłe podania leków przeciwdepresyjnych powodują up-regulację kortykalnego szlaku CREB/BDNF/TrkB w modelu depresji z deficytem cynku u myszy. U zwierząt pozbawionych receptora GPR39 po podaniach leków przeciwdepresyjnych działających na układ monoaminergiczny (imipramina, escitalopram, reboksetyna) Habilitantka nie obserwowała redukcji czasu bezruchu. Znaczącą redukcję czasu bezruchu obserwowała jedynie po podaniach związków hamujących układ glutamatergiczny poprzez antagonizm względem receptora NMDA (MK-801, ketamina). A zatem leki przeciwdepresyjne działające poprzez systemy monoaminergiczne, w przeciwieństwie do związków hamujących receptor NMDA, nie wykazały aktywności przy braku genu receptora GPR39. Wyniki te dowodzą, że obecność receptora GPR39 jest niezbędna do uzyskania odpowiedzi terapeutycznej leków działających poprzez układy monoaminergiczne.

Reasumując – opisane w monotematycznym cyklu publikacji wyniki są w pełni nowatorskie, wnoszą zupełnie nową wiedzę zarówno co do patomechanizmu depresji, jak i mechanizmu działania leków przeciwdepresyjnych. Dr Katarzyna Młyniec wykazała, że obniżony poziom cynkowego receptora GPR39 ma związek z depresją oraz że jego obecność wydaje się niezbędna do wywołania efektu terapeutycznego leków przeciwdepresyjnych działających poprzez systemy monoaminergiczne. Przedstawione przez Habilitantkę dane wskazują też, że receptor

GPR39 może być rozpatrywany jako potencjalny cel w poszukiwaniu nowego leku o właściwościach przeciwdepresyjnych.

4. Ocena działalności dydaktyczno- organizacyjnej

Na uwagę zasługuje też duża aktywność dydaktyczno-organizacyjna. Dr Katarzyna Młyniec czynnie uczestniczy w organizowaniu i prowadzeniu zajęć dydaktycznych (seminaria i ćwiczenia) z przedmiotów Biologia z genetyką i Endokrynologia. Jest autorem rozdziału „Wtórne przekaźniki" w podręczniku „Biologia z genetyką dla studentów Wydziału Farmaceutycznego. Opracowała programy dwóch fakultetów dla studentów studiów doktoranckich na Wydziale Farmaceutycznym.

Była opiekunem 7 prac magisterskich oraz recenzentem 4 prac magisterskich. Założyła i prowadzi Koło Naukowe Farmakobiologów przy Katedrze Farmakobiologii Wydziału Farmaceutycznego UJ CM. Sprawowała opiekę nad studentami w ramach programu Erazmus, Socrates m.in. z Hiszpanii, Wielkiej Brytanii oraz Turcji.

Dr Katarzyna Młyniec jest promotorem pomocniczym w dwóch przewodach doktorskich na Wydziale Farmaceutycznym pt. : „Rola szlaku kinazy glikogenu 3 beta w mechanizmie działania leków przeciwdepresyjnych" oraz „Wpływ cynku na aktywność niektórych niesteroidowych leków przeciwzapalnych (NLPZ)".

Jest kierownikiem jednego projektu pt.: Udział receptora GPR39 w mechanizmie działania leków przeciwdepresyjnych" – OPUS (NCN), nr. rej. 2011/03/B/NZ7/01999 (08.2012 – 08.2015) oraz projektu zatytułowanego „Potencjalna rola agonisty receptora GPR w chorobie depresyjnej" finansowanego w ramach konkursu Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego Iuventus Plus (2015-2017). Prowadziła również badania w ramach projektu statutowego pt. „Udział receptora GPR39 w patomechanizmie depresji", nr: K/ZDS/004699

Dr Katarzyna Młyniec uczestniczyła jako wykonawca międzynarodowego projektu realizowanego w Instytucie Farmakologii PAN w Krakowie pt.: „Depresja-mechanizmy-terapia", finansowanego z Europejskiego Funduszu Rozwoju w ramach Europejskiego Programu Operacyjnego Innowacyjna Gospodarka, POIG.01.01.02-12-004/09-00

Brała czynny udział w 11 krajowych i zagranicznych konferencjach, gdzie prezentowała wyniki swoich badań. Uczestniczyła w czterech szkoleniach oraz w dwóch stażach naukowych krajowych oraz dwóch zagranicznych (Monachium, Innsbruck). Współpracuje z kilkoma ośrodkami naukowymi w kraju i zagranicą.

Ważnym elementem pracy na rzecz środowisk naukowych w kraju i za granicą jest recenzowanie prac nadsyłanych do druku w czasopismach o zasięgu międzynarodowym, z obszaru, który jest przedmiotem zainteresowań naukowych Habilitantki.

Dr Katarzyna Młyniec jest członkiem Polskiego Towarzystwa Farmaceutycznego oraz członkiem European College of Neuropsychopharmacology. Jest członkiem Międzyzakładowej Komisji NSZZ Solidarność UJ CM.

Podsumowanie

Dr Katarzyna Młyniec posiada dorobek naukowy o dużej wartości merytorycznej, umiejętności badawcze oraz możliwości warsztatowe do prowadzenia badań eksperymentalnych dotyczących patomechanizmu depresji, udziału cynkowego receptora GPR39 w depresji oraz mechanizmów działania leków przeciwdepresyjnych. Przedstawiła rozprawę habilitacyjną w postaci cyklu siedmiu publikacji monotematycznych (6 prac oryginalnych i jedna praca poglądowa), które wnoszą istotne i oryginalne wartości do patomechanizmu i farmakoterapii depresji, a w przyszłości mogą przyczynić

się do wprowadzenia nowego leku przeciwdepresyjnego działającego poprzez pobudzenie receptora CPR39. Spójność i wartość merytoryczna badań prowadzonych przez Habilitantkę, dobrze udokumentowanych publikacjami w czasopismach o zasięgu międzynarodowym, daje jej ugruntowana pozycję w wyjaśnianiu patomechanizmu depresji, roli cynkowego receptora CPR39 w depresji i działaniu leków przeciwdepresyjnych oraz poszukiwaniu nowych możliwości farmakoterapii depresji.

Po zapoznaniu się z przedstawionym przez Habilitantkę całokształtem dorobku naukowego, dorobkiem naukowym stanowiącym szczególne osiągnięcie naukowe oraz działalnością dydaktyczno-organizacyjną stwierdzam, że dr Katarzyna Młyniec spełnia kryteria określone w Rozporządzeniu Ministra Nauki i Szkolnictwa Wyższego z dnia 11 września 2011 r. w sprawie kryteriów oceny osiągnięć osoby ubiegającej się o nadanie stopnia doktora habilitowanego i w pełni zasługuje na uzyskanie stopnia naukowego w dziedzinie nauk farmaceutycznych.

W związku z powyższym przedstawiam Dziekanowi Wydziału Farmaceutycznego Uniwersytetu Jagiellońskiego Collegium Medicum oraz Komisji Habilitacyjnej powołanej przez Centralną Komisję ds. Stopni i Tytułów wniosek o dopuszczenie dr farm. Katarzyny Młyniec do dalszych etapów postępowania habilitacyjnego.

KIEROWNIK
Katedry i Zakładu Farmakodynamiki UJ CM

prof. dr hab. Barbara Filipek