



ul. Rokietnicka 3
60-806 Poznań

tel. 061 854 7262
fax 061 854 7252
e-mail: farmakologia@ump.edu.pl

Poznań, 05.08.2022

Ocena dorobku naukowego, w tym osiągnięcia naukowego, będącego podstawą o wnioskowanie o stopień naukowy doktora habilitowanego pt. „Rodzaj interakcji pomiędzy COX-2 i mGluR5 w efektach przeciwdepresyjnych i kognitywnych (badania behawioralne i molekularne)” oraz działalności dydaktycznej, organizacyjnej i popularyzującej nauk dr n. med. Katarzyny Stachowicz

1. Życiorys naukowy/dane biograficzne

Pani dr n.med. Katarzyna Stachowicz, po uzyskaniu tytułu technika analityki medycznej w 1996 roku, pogłębiała wiedzę i umiejętności zawodowe podejmując studia na Wydziale Farmaceutycznym-*Collegium Medicum* Uniwersytetu Jagiellońskiego w Krakowie, które ukończyła w 2002 roku uzyskując tytuł magistra analityki medycznej (tytuł pracy magisterskiej: „Powinowactwo do receptorów adrenergicznych a aktywność hipotensyjna nowych pochodnych aryloksyalkilamin”). W roku 2010 habilitantka obroniła pracę doktorską pt. „Potencjalne przeciwłkowe działanie ligandów metabotropowych receptorów glutaminergicznych I i III grupy” pod kierunkiem prof. dr. hab. Andrzeja Pilca.

Od roku 2003 i nadal, Pani dr n.med. Katarzyna Stachowicz jest zatrudniona w Instytucie Farmakologii PAN, początkowo na stanowisku pracownika inżynierjno-technicznego w Zakładzie Badań Nowych Leków (2003-2006), a następnie w Zakładzie Neurobiologii (2006-2010). W kolejnych latach (2010-2021), po uzyskaniu stopnia doktora nauk medycznych w zakresie biologii medycznej, habilitantka kontynuowała pracę w Zakładzie Neurobiologii na stanowisku asystenta, a od 2021 roku adiunkta. W latach 2013-2014 dr Katarzyna Stachowicz przebywała na rocznym stażu postdoc w Center for Neuroscience Drug Discovery Vanderbilt University Medical Center, 1215 Light Hall Nashville, TN, USA aktywnie uczestnicząc w pracach grupy badawczej profesora PJ Conna.

2. Ocena dorobku naukowego

Dorobek i zainteresowania naukowe dr n.med. Katarzyny Stachowicz, tak w okresie przed uzyskaniem stopnia doktora nauk medycznych, jak i po nim, charakteryzują się wysoką spójnością i koncentrują przede wszystkim na poszukiwaniu nowych możliwości farmakoterapii depresji w oparciu o środki wpływające na metabotropowe receptory glutaminergiczne. Habilitantka poddaje ocenie ich aktywność przeciwdepresyjną, wpływ na zachowania socjalne i zdolności kognitywne (badania behawioralne) a także analizuje, na poziomie molekularnym, interakcje pomiędzy ligandami metabotropowych receptorów glutaminergicznych a czynnikami modulującymi ich działanie przeciwdepresyjne.

Całkowity dorobek naukowy dr n.med. Katarzyny Stachowicz obejmuje 54 prace oryginalne, 2. prace przeglądowe, 2 rozdziały w książce. Sumaryczny współczynnik oddziaływania **IF wynosi 175,536; punktacja MNiSW – 2453**. Należy zauważyć, że spośród 54. oryginalnych, pełnotekstowych prac naukowych aż 53 znalazło się w czasopismach posiadających IF, w 15. publikacjach Habilitantka jest pierwszym autorem, a w 4. drugim. Prace Habilitantki były, według Web of Science (styczeń, 2022), **cytowane 1326 razy (1221 bez auto-cytacji)**, a indeks **Hirscha wynosi 23**.

Godnym podkreślenia jest fakt dynamicznego rozwoju naukowego dr Katarzyny Stachowicz, bowiem przed uzyskaniem stopnia doktora nauk medycznych Habilitantka opublikowała 23 prace oryginalne (**IF = 53,651, punktacja MNiSW = 382**), a po jego uzyskaniu istotnie zwiększyła dorobek naukowy publikując kolejne 31 prac oryginalnych i 2. prace przeglądowe (**IF = 121,885; punktacja MNiSW/MEiN = 2071**).

Osiągnięcie naukowe dr n. med. Katarzyny Stachowicz, które jest podstawą do ubiegania się o stopień naukowy doktora habilitowanego składa się z cyklu 6. oryginalnych publikacji pełnotekstowych i 1. monografii opublikowanych w latach 2019-2021 o łącznym **IF=26,738 i punktacji MNiSW/MEiN = 670**.

Doktor n. med. Katarzyna Stachowicz jest także autorem 41. (16. przed uzyskaniem stopnia doktora) doniesień na konferencjach, w tym 6. krajowych i 35. zagranicznych.

A. Działalność naukowo-badawcza przed uzyskaniem stopnia doktora nauk medycznych.

Dr Katarzyna Stachowicz od początku swojej kariery naukowej była związana z Instytutem Farmakologii PAN w Krakowie, początkowo w Zakładzie Badań Nowych Leków (2003-2006), a następnie w Zakładzie Neurobiologii (2006-2010).

Analizując opublikowane w latach 2004 -2009 artykuły można wnioskować, że od początku działalności naukowo-badawczej zainteresowania Habilitantki skupione były na problematyce dotyczącej badań (in vivo) efektywności przeciwdepresyjnej i przeciwłękowej różnych związków będących ligandami metabotropowych receptorów glutaminergicznych lub serotonergicznych. Początkowo, udział w pracach badawczych polegał na podawaniu badanych substancji, w tym wykonaniu operacji stereotaktycznych u szczurów w celu zaimplantowania kaniul do podań domózgowych, przeprowadzaniu i interpretacji wyników testów behawioralnych (testy: Porsolta, Vogla, aktywności lokomotorycznej, podniesionego labiryntu krzyżowego, czterech płytek, zawieszenia za ogon), kolejno, dr Katarzyna Stachowicz była współpomysłodawcą badań i pierwszym autorem licznych publikacji prezentujących ich wyniki.

Dr Katarzyna Stachowicz brała aktywny udział (wykonawca odpowiedzialny za badania in vivo) w realizacji trzech projektów badawczych, w tym jednego międzynarodowego (PNRF-103-AI-1/07, Grant Polsko-Norweski, kierownik Prof. dr hab. Andrzej Pilc, Stworzenie platformy akademickiej do odkrywania substancji działających na układy serotonergiczne lub glutaminergiczne jako potencjalnych nowych leków przeciwdepresyjnych lub przeciwłękowych.; KBN nr 4 P05F03517, kierownik Prof. Dr hab. Maciej Pawłowski. Poszukiwanie nowych, nietypowych neuroleptyków w grupie arylo-alkilo-piperazyny z ugrupowaniami o podwyższonej aromatyczności.; KBN nr 3 P05F01223, kierownik dr Andrzej Bojarski. Ograniczenie swobody konformacyjnej arylopiperazyn kluczem do sterowania aktywnością wewnętrzną wobec receptorów serotoninowych 5-HT1A; nowe narzędzia w modelowaniu receptorów.). Należy wnioskować, że warsztat badawczy Habilitantki, a przede wszystkim umiejętność planowania badań, doboru, przeprowadzania i interpretacji wyników testów behawioralnych ulegały w tym okresie systematycznemu doskonaleniu.

Habilitantka, w roku 2006, została uhonorowana (nagroda ENCP) rocznym członkostwem w Federation of European Neuroscience Societies (FENS).

W okresie przed doktoratem dr n.med. Katarzyna Stachowicz opublikowała 23 prace oryginalne (**IF = 53,651, punktacja MNiSW = 382**), w siedmiu z nich jest pierwszym autorem, w jednym drugim; była autorem 16. doniesień na konferencjach, wygłosiła 5 wykładów, których tematyka była zgodna z głównymi zainteresowaniami naukowymi Habilitantki. Efektem końcowym tej aktywności naukowej było przygotowanie pracy doktorskiej obronionej w 2010 roku. pt. „Potencjalne przeciwłękowe działanie ligandów metabotropowych receptorów glutaminergicznych I i III grupy” pod kierunkiem prof. dr. hab. Andrzeja Pilca. Za swoją aktywność i osiągnięcia naukowe w tym okresie Habilitantka została uhonorowana licznymi nagrodami (nagroda ENCP, 2006, 2007, nagroda Dyrektora Instytutu Farmakologii PAN, 2007, 2008, stypendium doktorskie L'Oreal dla Kobiet i Nauki, 2008).

B. Działalność naukowo-badawcza po uzyskaniu stopnia doktora nauk medycznych

Po uzyskaniu stopnia doktora nauk medycznych w zakresie biologii medycznej, habilitantka kontynuowała pracę w Zakładzie Neurobiologii na stanowisku asystenta, a od 2021 roku adiunkta prowadząc badania z zakresu farmakologii eksperymentalnej. Badania te stanowiły kontynuację zainteresowań naukowych z okresu doktoratu i miały na celu dalsze pogłębianie wiedzy na temat farmakodynamicznych efektów oddziaływania na metabotropowe receptory glutaminergiczne, tak w badaniach in vivo, jak i elektrofizjologicznych czy molekularnych oraz poznanie potencjalnych interakcji z czynnikami/ścieżkami sygnałnymi modulującymi te efekty. Wyniki tych badań dr n.med. Katarzyna Stachowicz opublikowała w 31 pracach oryginalnych (w tym 6, stanowiących osiągnięcie będące podstawą do wnioskowania o stopień doktora habilitowanego), ponadto w tym czasie ukazały się 2. prace przeglądowe (w tym 1, stanowiąca osiągnięcie będące podstawą do wnioskowania o stopień doktora habilitowanego), których tematyka jest spójna z głównymi zainteresowaniami Habilitantki. Łączna punktacja dorobku naukowego w latach 2010-2022 wynosi: **IF = 121,885; punktacja MNiSW/MEiN = 2071**.

Dr Katarzyna Stachowicz jest także współautorem dwóch rozdziałów w monografiach naukowych, jest również edytorem gościnnym *Frontiers in Pharmacology*, wydanie specjalne pt.: “The pharmacotherapy of depression - searching for new mechanisms and drug interactions. Basic and clinical research.” 2021/2022. Aktywność naukowa Habilitantki w tym okresie obejmuje także wykłady (11), z których dwa zostały wygłoszone podczas jej rocznego pobytu (2013-2014) na stażu postdoc w Center for Neuroscience Drug Discovery Vanderbilt University Medical Center, Nashville, TN, USA, 25 prezentacji plakatowych podczas konferencji krajowych i zagranicznych.

Podczas stażu po-doktorskiego typu postdoc i pracy w zespole Prof. Petera Jeffrey Conna, Habilitantka uczestniczyła w dwóch projektach badawczych, w ramach których prowadziła badania nad przeciwdepresyjnymi mechanizmami działania ligandów I i III grupy mGluRs (mGluR5, mGluR4). Ponadto, dr Katarzyna Stachowicz była członkiem zespołu organizacyjnego Academic Drug Discovery Consortium Conference w Nashville (9-11.10.2013) Vanderbilt Center for Technology Transfer and Commercialization oraz uczestniczyła w półrocznym szkoleniu VCNDD – gdzie odbywały się wykłady na temat transferu technologicznego osiągnięć naukowych akademickich ośrodków badawczych do przemysłu farmaceutycznego typu „Modern Drug Discovery”, oraz zasad obowiązujących w trakcie badań klinicznych w celu wdrożenia nowych leków do kliniki.

W latach 2010-2021 dr n.med. Katarzyna Stachowicz była kierownikiem jednego i wykonawcą sześciu zakończonych projektów badawczych finansowanych w drodze konkursów krajowych (6) i międzynarodowych (1). Projekt badawczy zatytułowany „Udział cyklooksygenazy w przeciwdepresyjnym działaniu ligandów I grupy mGluR” (NCN SONATA 7, UMO-2014/13/D/NZ7/00292), którego Habilitantka była kierownikiem, stanowi podstawę osiągnięci habilitacyjnego. Wynikiem realizacji tego grantu są publikacje naukowe (6), prace przeglądowe (2), prace popularnonaukowe (4), oraz 13 doniesień konferencyjnych, oraz nagroda: 2017 – ECNP Workshop on Neuropharmacology for Young Scientists in Europe, Nice 2017 (nagroda dla młodego naukowca P. Pańczyszyn-Trzewik za badania z grantu pod kierownictwem K. Stachowicz SONATA 7, UMO-2014/13/D/NZ7/00292).

Habilitantka recenzowała artykuły dla *Behavioural Pharmacology*, *Pharmacological Reports*, *Journal of Pharmacy and Pharmacology* oraz czasopisma *Wszechświat*, którego redakcji jest wieloletnim członkiem.

Podsumowując, należy stwierdzić, że zarówno zainteresowania naukowe, jak i warsztat badawczy Habilitantki uległy dalszemu pogłębieniu w okresie po otrzymaniu stopnia doktora nauk medycznych, co przełożyło się na zwiększenie jej aktywności naukowej wyrażonej liczbą prac oryginalnych i poglądowych publikowanych w czasopiśmie o wysokim stopniu oddziaływania.

3. Ocena osiągnięcia naukowego będącego podstawą do wnioskowania o stopień naukowy doktora habilitowanego

Cykl publikacji stanowiący podstawę postępowania habilitacyjnego, pod wspólnym tytułem *Rodzaj interakcji pomiędzy COX-2 i mGluR5 w efektach przeciwdepresyjnych i kognitywnych (badania behawioralne i molekularne)* składa się z 6. oryginalnych prac i 1. pracy przeglądowej pochodzących z lat 2019-2021. Wszystkie prace zostały opublikowane w czasopiśmie znajdujących się w bazie JCR o łącznym współczynniku oddziaływania **IF = 26,738** i **punktacji MNiSW/MEiN = 670**. We wszystkich pracach Habilitantka jest pierwszym autorem, a jej udział, zgodnie z oświadczeniem, wynosił od 70% (prace 4, 5, 6), przez 85% (praca 3) do 100% (prace 1, 2, 7) i obejmował zarówno koncepcje i założenia pracy, projekt i wykonanie eksperymentu, zdobywanie środków finansowania, opracowanie i interpretację wyników, sformułowanie wniosków, przygotowanie prac do druku i korespondencję z wydawnictwem, w tym odpowiedzi na recenzje. Wszystkie prace cyklu stanowią podsumowanie wyników grantu, którego dr n. med. Katarzyna Stachowicz była kierownikiem. Wkład indywidualny Habilitantki w powstanie publikacji nie budzi zastrzeżeń i świadczy o Jej dominującym udziale w pracy zespołu badawczego.

Cykl 7. spójnych tematycznie publikacji składających się na recenzowane osiągnięcie naukowe dotyczy niezmiernie istotnej kwestii, a mianowicie poszukiwania, w oparciu o badania przedkliniczne, odpowiedzi na pytanie, w jaki sposób skutecznie leczyć depresję z jednoczesnym minimalizowaniem skutków ubocznych takich terapii, przede wszystkim w odniesieniu do procesów kognitywnych.

Depresja należy do przewlekłych schorzeń, na którą cierpi, jak się szacuje obecnie, około 300 milionów ludzi, a problemy związane z dostępem i efektywnością leczenia czynią z tej choroby wiodącą przyczynę obniżenia statusu zdrowotnego społeczeństw na całym świecie. Pomimo wieloletnich badań nad patogenezą depresji nie udało się, jak dotąd, w sposób jednoznaczny zidentyfikować uniwersalnych neurobiologicznych determinant leżących u podstaw rozwoju tego schorzenia, choć ostatnio na znaczeniu zyskuje koncepcja zapalna (*neuroinflammation*). Uważa się, że przewlekły proces zapalny jest kluczowym czynnikiem wchodzącym w interakcje z trzema głównymi komponentami neurobiologicznymi depresji takimi jak obniżenie poziomu serotoniny, dysregulacja osi podwzgórze-przysadka-kora nadnerczy, czy też zaburzenia neurogenezy w obrębie hipokampu. Do czynników zapoczątkowujących i podtrzymujących tę patofizjologiczną kaskadę zalicza się każdy przewlekły stan prowadzący do zwiększenia poziomu krążących czynników prozapalnych zdolnych przekroczyć barierę krew-mózg i aktywować mikroglej, jak również pierwotny stan zapalny w obrębie układu nerwowego towarzyszący chorobom neurodegeneracyjnym. Dysregulacja osi podwzgórze-przysadka-nadnercza prowadzi do zwiększenia pozakomórkowego poziomu

glutaminianu i nasilenia zależnej od tego związku neurotransmisji (tzw. ekscytotoksyczność glutaminianu). Odkrycie obecności zaburzeń układu glutaminianergicznego u osób z depresją pod koniec XX wieku stało się podstawą formowania nowych teorii rozwoju tego schorzenia, a także poszukiwania nowych sposobów farmakoterapii. W badaniach przedklinicznych wykazano skuteczność przeciwdepresyjną wielu związków oddziałujących na ten układ (np. pozytywny allosteryczny modulator receptora jonotropowego AMPA, antagonist presynaptycznego receptora mGlu2/3, antagonist postsynaptycznego receptora mGlu5), aczkolwiek ich zastosowanie w praktyce, o czym wspomina Habilitantka w omówieniu, jest ograniczone czy wręcz niemożliwe z uwagi na liczne działania niepożądane wykazane w badaniach *in vivo* lub brak spodziewanego efektu w obserwacjach klinicznych. W ostatnim czasie dość dużym zainteresowaniem cieszą się badania nad przynoszącymi szybki efekt przeciwdepresyjny antagonistami receptora NMDA, ketaminą, jej stereoizomerami (R i S), metabolitami (S-norketamina i (2R,6R)-hydroxynorketamina), choć działania psychozomimetyczne ograniczają ich przewlekłe zastosowanie. Możliwości modulowania odpowiedzi na działanie ligandów receptorów glutaminianergicznym mogą kryć się w odpowiedzi na pytanie stawiane przez dr n. med. Katarzynę Stachowicz o rodzaj interakcji zachodzącej pomiędzy tymi receptorami a aktywnością cyklooksyzogenazy-2 (COX-2), której nadmierna ekspresja jest powiązana z zaburzeniami nastroju i lękiem, a która odgrywa istotną rolę w regulacji podstawowych funkcjach mózgu takich jak plastyczność synaps czy procesy pamięciowe.

Heterogeniczność depresji będąca odzwierciedleniem złożonych czynników genetycznych, metabolicznych i neurobiologicznych, które prowadzą do rozwoju tej choroby i uwidaczniają się z różną siłą w trakcie życia chorych niewątpliwie utrudnia dobranie i zastosowanie odpowiedniego leczenia. Szeroko pojęte zaburzenia nastroju stają się istotnym wyzwaniem dla systemów opieki zdrowotnej i zdrowia publicznego z uwagi na niską efektywność współcześnie stosowanych farmakoterapii w uzyskiwaniu długotrwałych remisji, odłożoną w czasie, do tygodni czy miesięcy, poprawę kliniczną po rozpoczęciu leczenia i wysokie prawdopodobieństwo nawrotów. Co więcej, terapie te nie są wolne od działań niepożądanych, wśród których przede wszystkim należy wymienić zaburzenia procesów poznawczych. Zatem poszukiwania nowych środków, które mogłyby szybciej, skuteczniej i na dłuższy czas zapewniać remisję depresji a jednocześnie charakteryzować się lepszym profilem bezpieczeństwa jest niezwykle pożądane. Zainteresowania naukowe dr n.med. Katarzyna Stachowicz wychodzą naprzeciw tym oczekiwaniom, koncentrują się bowiem na badaniu nowych, nieodkrytych dotąd mechanizmów zaangażowanych w etiopatogenezę depresji, których modulacja farmakologiczna może przynieść pożądane efekty kliniczne, równocześnie minimalizując lub wręcz neutralizując działania niepożądane.

Badania stanowiące podstawę osiągnięcia naukowego przeprowadzone przez dr Katarzynę Stachowicz stanowią logiczną konsekwencję wcześniejszych obserwacji Habilitantki i koncentrują się na poszukiwaniu i ocenie znaczenia potencjalnej interakcji pomiędzy negatywnym allosterycznym ligandem metabotropowego receptora glutaminergicznego mGluR grupy I (3-[(2-metylo-1,3-thiazolo-4-yl)etynylo]-pirydyną (MTEP) a aktywnością cyklooksyzogenazy-2 (COX-2).

Badania zaplanowano i przeprowadzono uwzględniając trzy logicznie powiązane i uzupełniające się etapy mające na celu: (1) poszukiwanie potencjalnej interakcji pomiędzy ligandem mGluR5 (MTEP) a COX-2 w panelu testów behawioralnych służących do oceny aktywności przeciwdepresyjnej, zachowań socjalnych oraz zdolności kognitywnych (prace 1,2,5); (2) poszukiwanie potencjalnej interakcji pomiędzy związkiem referencyjnym o znanym mechanizmie działania przeciwdepresyjnego (imipraminą) a COX-2 w panelu testów behawioralnych służących do oceny depresji, zachowań socjalnych oraz zdolności kognitywnych (prace 2,3,4), i wreszcie (3) zbadanie mechanizmów przeciwdepresyjnego działania interakcji: mGluR/COX-2 (prace 5,6). Podsumowanie tych badań stanowi publikacja nr 7, przedstawiającą aktualny stan wiedzy, w oparciu o dane literaturowe i własne obserwacje, na temat mechanizmu regulacji przez COX-2 synapsy pobudzającej.

W celu weryfikacji postawionych hipotez badawczych Habilitantka posługuje się odpowiednio dobranymi metodami badawczymi (testy behawioralne) szeroko stosowanymi w laboratoriach naukowych na świecie do badań przesiewowych potencjalnych leków przeciwdepresyjnych (tj. dla zbadania działania przeciwdepresyjnego testem Porsolta (prace 1,2) i zawieszenia za ogon (prace 1,2,5,6), dla oceny pamięci długotrwałej i przestrzennej zmodyfikowanym testem labiryntu Barnes'a (prace 1,3,5,6), dla oceny zdolności motorycznych i koordynacji zmodyfikowanym testem rotarod (prace 1,3), dla oceny lęku testem hipertermii wywołanej stresem (praca 1) i wreszcie dla testem (ang) *three chamber sociability* dla zbadania interakcji socjalnych (prace 1). Każdorazowo, Habilitantka oceniała wpływ badanych związków (podawanych osobno lub w kombinacji) na aktywność lokomotoryczną myszy, co jest o tyle istotne dla prawidłowej interpretacji wyników uzyskanych w testach Porsolta oraz zawieszenia za ogon może być zaburzona -symulacja efektu przeciwdepresyjnego lub jego maskowanie), których nie tylko wybór i przeprowadzenie, ale także dyskusja i interpretacja wyników świadczą o świetnym opanowaniu

przez dr n.med. Katarzyna Stachowicz warsztatu badawczego. Podobnie, w sposób prawidłowy, kierując się istotnymi w aspekcie prowadzonych badań różnicami pomiędzy szczepami myszy, dobierano rodzaj zwierząt do odpowiednich badań. Na badania uzyskano zgodę Komisji Etycznej Instytutu Farmakologii PAN w Krakowie a szczegółowa analiza metodyki badań pozwala wnioskować, że były one przeprowadzone zgodnie z zasadą 3R (Replacement, Reduction, Refinement).

Poza testami behawioralnymi Habilitantka w swoich badaniach zastosowała szereg technik z zakresu biologii molekularnej (Western Blot, RT-PCR, HPLC; prace 4,5,6) i elektrofizjologii (praca 3,5,6) wykazując znajomość nowoczesnych metod analitycznych oraz umiejętności wykonania i/lub oceny ich wyników.

Pierwsze prace cyklu (1 i 2) skupiają się na poszukiwaniu i ocenie interakcji zachodzących po podaniu liganda I grupy mGluR, związku MTEP, a COX-2 w modelowaniu zachowań u myszy. Wybór MTEP, jako związku modelowego, oddziałującego na receptory glutaminianergiczne jest poparty, nie tylko doniesieniami literaturowymi, ale także wieloletnimi doświadczeniami Habilitantki z jego zastosowaniem w badaniach farmakologicznych nad lękiem (praca doktorska) i depresją. Po przeprowadzeniu badań z różnymi dawkami MTEP, oraz na podstawie danych z piśmiennictwa do dalszych obserwacji wybrano dawkę 1mg/kg m.c. Dr n. med. Katarzyna Stachowicz wykazała, że podawanie selektywnego inhibitora COX-2, związku NS398 (w dawce 3mg/kg m.c.) jest związane z nasileniem efektu przeciwdepresyjnego MTEP-u (test Porsolta i zawieszenia za ogon) i jest to efekt czaso-zależny. Co istotne dla właściwej interpretacji uzyskanych wyników badań, substancje te nie zaburzały aktywności lokomotorycznej zwierząt. Kolejne testy służące ocenie wpływu badanych substancji (podawanych razem lub osobno, przewlekle lub jako pojedyncza dawka) na pamięć przestrzenną, długotrwałą, zachowania socjalne i lęk pozwoliły na sformułowanie dalszych wniosków: (1) hamowanie COX-2 korzystnie modyfikuje zdolności kognitywne myszy po zastosowaniu MTEPu, (2) hamowanie COX-2 wpływa (hamuje) na efekt rozwinięcia tolerancji u myszy na stres po podaniach MTEP-u, (3) hamowanie COX-2 nie wpływa na zachowania socjalne myszy traktowanych ligandem mGluR grupy I, związkiem MTEP.

W kolejnym etapie tej części badań Habilitantka, w celu potwierdzenia specyficznej roli COX-2 w potencjalnym modulowaniu przeciwdepresyjnych efektów antagonisty receptora mGlu5, przeprowadziła badania z zastosowaniem nioselektywnego liganda COX, indometacyny (praca 2). Na podstawie zaobserwowanego braku wpływu kombinacji MTEP/indometacyna na zachowania depresyjne u myszy (test Porsolta, zawieszenia za ogon) wnioskowano o wybiórczej, w odniesieniu do COX- 2, roli tej izoforny enzymu w modyfikowaniu działania liganda mGluR5 (MTEP).

W drugiej części badań, dr n.med. Katarzyna Stachowicz skupiła się na ocenie potencjalnej interakcji pomiędzy wybranym referencyjnym lekiem przeciwdepresyjnym imipraminą a inhibitorem COX-2 (prace 2,3,4). Wybór imipraminy jako leku modelowego Habilitantka uzasadnia nie tylko jej molekularnym mechanizmem działania przeciwdepresyjnego, ale także wykazaniem we wcześniejszych pracach prowadzonych w Instytucie Farmakologii PAN wpływem tego leku na ekspresję receptora mGlu5 w mózgu u szczurów. Efekt ten potwierdzono również w badaniach przeprowadzonych przez dr K. Stachowicz w obrębie najpierw kory przedczołowej (po 7 dniach podawania) a następnie hipokampu (po 14 dniach podawania) i co ciekawe, wzrost stężenia białka receptora mGlu5 w tej ostatniej lokalizacji korelował czasowo z pierwszymi efektami przeciwdepresyjnymi imipraminy. Wzrostowi poziomu białka receptora mGlu5 w korze przedczołowej, ale nie w hipokampie, towarzyszył wzrost ekspresji genu Grm5. O prawidłowości wyboru imipraminy, jako środka referencyjnego, świadczy także stwierdzone przez Habilitantkę obniżenie ekspresji genu białka COX-2 w korze przedczołowej badanych zwierząt (praca 4). Niezwykle interesującym jest odkrycie zależnego od dawki imipraminy (10 vs 20 mg/kg m/c.) negatywnego wpływu na funkcje kognitywne badanych zwierząt i zdolności do ich odwracania przez hamowanie COX-2 (związek NS398). Kolejno, udowodniono, że imipramina wykazuje działanie przeciwdepresyjnie, tak po podaniach łącznych z nioselektywnym inhibitorem COX (w przeciwieństwie do MTEPu), jak i po podaniach z selektywnym inhibitorem COX-2, związkiem NS398(podobnie jak MTEP), co może sugerować, jak postuluje Habilitantka, odmienną regulację receptora mGlu5 w zależności od tego czy receptor ten jest modulowany bezpośrednio przez ligand, czy pośrednio poprzez inne neurotransmitery lub mechanizmy receptorowe (praca 2, 3). Interesującym, z punktu widzenia wyjaśniania molekularnych mechanizmów działania leku, jest odkrycie, iż zjawisko długotrwałego osłabienia synaptycznego (LTD) obserwowane w korze mózgowej myszy C57Bl/6J po przewlekłym podawaniu imipraminy, jest odwracane przez związek NS398, i że jest to efekt prawdopodobnie zależny od aktywności cytozolowej fosfolipazy A₂ (praca 3).

W kolejnych pracach (5,6,7) Habilitantka stara się wyjaśnić mechanizm obserwowanych zmian behawioralnych świadczących o istnieniu wspólnej ścieżki sygnalizacyjnej z COX-2, odpowiedzialnej za

modulację receptora mGlu5. W tym celu dr n. med Katarzyna Stachowicz przeprowadziła szereg badań z wykorzystaniem strategii blokujących działanie innych ścieżek sygnałnych (GABA-ergicznych, serotonergicznych) i wykazała współdziałanie układów 5-HT i GABA w efektach obserwowanych behawioralnych związanych z modulowaniem aktywności receptora mGlu5 i COX-2 (praca 5). Ponadto, Habilitantka udowodniła (badania: na myszach mGlu7^{-/-} oraz z zastosowaniem AMN082, selektywnego agonisty mGluR7) znaczący udział presynaptycznego receptora mGlu7 w obserwowanych, po przewlekłym podawaniu badanych związków, zmianach behawioralnych, a mianowicie wykazała, iż bezpośredni wpływ hamowania COX-2 na procesy uczenia się i zachowania depresyjne jest powiązany ze zmniejszeniem ekspresji mGluR7 w hipokampie badanych zwierząt (praca 5). Odkrycie to jest zupełnie nowym niezbadanym dotąd przez żadną grupę badawczą zjawiskiem i może stanowić podstawę do poszukiwań nowych form farmakoterapii depresji.

Kolejne badania miały na celu zbadanie wpływu podania MTEP +/- NS398 na poziom transporterów glutaminianu (EAAT) przy przyjęciu założenia, iż dialog pomiędzy mGluR5 i COX-2 jest mediowany aktywnością hipokampalnych transporterów aminokwasów pobudzających. Habilitantka wykazała, iż efekty elektrofizjologiczne obserwowane po podaniach badanych związków są skorelowane ze zmianami w poziomie transporterów aminokwasów pobudzających, EAAT1 i EAAT3, a co za tym idzie, jak sugeruje dr K. Stachowicz, z dystrybucją glutaminianu w synapsie i cyklem przemian glutamina/glutaminian (prace 6 i 7).

Podsumowanie:

Wyniki badań dr n. med. Katarzyny Stachowicz prowadzonych według prawidłowo opracowanego algorytmu pozwalają na wnioskowanie, że istnieje wzajemne oddziaływanie pomiędzy receptorem mGlu5 a COX-2 i związek ten odgrywa istotną rolę, tak w modulowaniu zachowań depresyjnych, jak i procesów kognitywnych u myszy. Obserwacje poczynione przez Habilitantkę stanowią oryginalne osiągnięcie naukowe i są solidną podstawą dla ich kontynuacji. Dostarczają bowiem wielu, nowych, nieznanych dotąd informacji na temat wzajemnego oddziaływania szeregu istotnych dla prawidłowego funkcjonowania mózgu szlaków sygnałnych. Odkryte przez Habilitantkę mechanizmy modulacji transmisji glutaminianu otwierają możliwości poszukiwania takich strategii farmakoterapii depresji, które będą uwzględniały nowe punkty uchwytu farmakologicznego, a w efekcie będą niosły nadzieję na skuteczniejsze i bezpieczniejsze dla chorych leczenie. Badania dr n. med. Katarzyny Stachowicz udowadniają po raz kolejny jak skomplikowane i wzajemnie ze sobą związane są procesy zachodzące w mózgu, tak pod wpływem depresji, jak i interwencji farmakologicznych, co niewątpliwie przekłada się na trudności z uzyskaniem długotrwałych efektów terapeutycznych u osób cierpiących na to przewlekłe schorzenie.

4. Ocena dorobku dydaktycznego i popularyzatorskiego, współpracy międzynarodowej oraz działalności organizacyjnej

Z uwagi na zatrudnienie w Instytucie Badawczym działalność dydaktyczna nie wymagana, jednak i w tej dziedzinie Habilitantka wykazała się aktywnością angażując się w szkolenia dla doktorantki Krakowskiej Interdyscyplinarnej Szkoły Doktorskiej z zakresu ochrony zwierząt wykorzystanych do celów naukowych lub edukacyjnych, opiekę nad stażystami, studentami kierunku neurobiologii, odbywającymi praktyki studenckie oraz opiekę (nieformalną) nad doktorantką polegającą na wdrożeniu jej w eksperymenty behawioralne. Do tego rodzaju działalności należy zaliczyć także współautorstwo dwóch rozdziałów w monografiach dotyczących depresji i lęku.

Na szczególne wyróżnienie zasługuje działalność dr Katarzyny Stachowicz w dziedzinie popularyzacji nauki, na którą składają się liczne wykłady i artykuły popularnonaukowe, jak również członkostwo zespołu redakcyjnego czasopisma „Wszechświat”, nominowanego do nagrody w roku 2021 w konkursie „Popularyzator nauki 2021”.

Pani dr n. med. Katarzyna Stachowicz jest członkiem następujących towarzystw naukowych: Polskiego Towarzystwa Badań Układu Nerwowego (PTBUN), Polskiego Towarzystwa Przyrodników im. Kopernika (PTKP) od 2004.

Udział dr Katarzyny Stachowicz w licznych projektach badawczych, zarówno w charakterze kierownika, jak i wykonawcy, świadczy o niezbędnej dla skutecznej realizacji takich zadań umiejętności organizacji pracy i współpracy w zespołach. Habilitantka współpracowała m.in. z Warszawskim Uniwersytetem Medycznym, Kolegium Nauk Przyrodniczych Uniwersytetu Rzeszowskiego, Zakładem Fizjologii Instytutu Farmakologii im. J. Maja PAN w Krakowie. Należy także wspomnieć o cennym doświadczeniu, jakiego niewątpliwie nabyła dr n.med. Katarzyna Stachowicz, tak w zakresie warsztatu badawczego, jak i umiejętności pracy w zespole badawczym podczas stażu po-doktorskiego typu postdoc w

zespole prof. Petera Jeffrey Conna w Center for Neuroscience Drug Discovery Vanderbilt University Medical Center Nashville, TN, USA.

Dr n.med. Katarzyna Stachowicz była kierownikiem jednego projektu: Grant NCN SONATA 7, UMO-2014/13/D/NZ7/00292 „Udział cyklooksigenazy w przeciwdepresyjnym działaniu ligandów I grupy mGluR” – projekt realizowany był w latach 2015-2021, oraz wykonawcą licznych projektów:

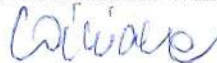
1. Grant PRELUDIUM 2016/23/N/NZ4/01337, kierownik Patrycja Pańczyszyn-Trzewik; *Rola aktywacji nuklearnego czynnika transkrypcyjnego Nrf2 indukowanej podaniami (R,S)- Sulforafanu w regulacji zachowań typu depresyjnego w modelu usunięcia opuszek węchowych u myszy* – realizacja od 2018 roku do chwili obecnej;
2. Grant POIG:01.01.02-12-004/09-00 kierownik Prof. dr hab. Krzysztof Wędzony; *Depresja- mechanizmy – terapia (DeMeTer)*, Organ przyznający fundusze: Fundusze Europejskie – Program Innowacyjna Gospodarka – realizacja 2010-2014;
3. NCN 2013/09/B/NZ7/00748, kierownik dr Andrzej Chodkowski, *Synteza i biologiczna aktywność pochodnych piperolidyno-2,5-dionu o potencjalnym działaniu przeciwdepresyjnym*. Warszawski Uniwersytet Medyczny, Wydział Farmaceutyczny z Oddziałem Medycyny Laboratoryjnej;
4. NCN 2016/23/B/NZ7/02916, kierownik Prof. Tomasz Bączek; *Modelowanie ilościowych zależności stabilność metaboliczna-struktura chemiczna narzędziem usprawniającym opracowanie potencjalnych kandydatów na nowe leki przeciwdepresyjne i przeciwłękowe*. Gdański Uniwersytet Medyczny, Wydział Farmaceutyczny;
5. NCN OPUS 6, 2013/11/B/NZ7/01638, kierownik Prof. Franciszek Herold; *Synteza pochodnych pirydopirymidyny ligandów o podwójnej wiązalności do 5-HT1AR oraz SERT*;
6. NCN, 2012/06/A/NZ7/00014, kierownik Prof. Andrzej Pilc *Trzecia grupa receptorów metabotropowych dla glutaminianu jako punkt działania przyszłych leków antypsychotycznych*.

5. Wniosek końcowy

Podsumowując pracę naukową, dydaktyczną i organizacyjną stwierdzam, że dr n. med. Katarzyna Stachowicz jest dojrzałym pracownikiem naukowym, zdolnym do samodzielnego rozwiązywania problemów badawczych, kierowania zespołem naukowym, kształcenia młodej kadry naukowej i skutecznego publikowania w czasopismach o zasięgu międzynarodowym. Wysoko oceniam merytoryczną wartość osiągnięcia naukowego, które odznacza się aspektami poznawczym i aplikacyjnym, a wszystkie, składające się na ten cykl prace uważam za wartościowe i oryginalne oraz spójne tematycznie. Prace te stanowią znaczny wkład w rozwój wiedzy na temat znaczenia wzajemnego oddziaływania metabotropowych receptorów glutaminianergicznych i cyklooksigenazy-2 w terapii depresji i mogą stanowić podstawę do poszukiwania takich strategii farmakoterapii depresji, które będą uwzględniały nowe punkty uchwytu farmakologicznego, a w efekcie będą niosły nadzieję na skuteczniejsze i bezpieczniejsze dla chorych leczenie choroby afektywnej jednobiegunowej.

Przedstawione do recenzji osiągnięcie naukowe, jak i pozostała aktywność Kandydatki odpowiada wymogom ustawowym (art. 219 ust.1 pkt 2), co upoważnia mnie do przedłożenia wniosku Wysokiej Radzie Naukowej Instytutu Farmakologii im. Jerzego Maja Polskiej Akademii Nauk w Krakowie o przyjęcie całości rozprawy i dopuszczenie dr n.med. Katarzyny Stachowicz do dalszych etapów postępowania habilitacyjnego i nadania stopnia doktora habilitowanego w dziedzinie nauk medycznych.

dr hab. med. Hanna Winiarska



Poznań, 05.08.2022