

Gdańsk, 18.01.2023

Dr hab. n med. Marcin Wirtwein
Katedra i Zakład Farmakologii
Gdański Uniwersytet Medyczny
e-mail: mwirtwein@gumed.edu.pl

**Ocena osiągnięcia naukowego w sprawie nadania stopnia doktora
habilitowanego w dziedzinie nauk medycznych i nauk o zdrowiu,
dyscyplinie nauki medyczne dr n. med. Anny Haduch z Zakładu
Farmakokinetyki i Metabolizmu Leków Instytutu Farmakologii
PAN w Krakowie**

I. Ocena osiągnięcia naukowego: "Udział cytochromu P450 (CYP) w metabolizmie substratów istotnych dla prawidłowego funkcjonowania mózgu. Znaczenie fizjologiczne i farmakologiczne".

Osiągnięcie naukowe stanowi 1 cykl powiązanych tematycznie artykułów naukowych opublikowanych w czasopismach naukowych, które w roku opublikowania artykułu w ostatecznej formie były ujęte w wykazie

sporządzonym zgodnie z przepisami wydanymi na podstawie art. 267 ust.2 pkt 2 lit. b.

W skład osiągnięcia naukowego wchodzi siedem prac (sześć oryginalnych i jedna przeglądowa podsumowująca temat) o łącznym IF 29.429 i łącznej punktacji MNiSW/KBN 385. Prace zostały opublikowane w latach 2013 - 2022 w czasopismach: dwie prace w *Neurochemistry International*, po jednej w *Pharmacological Research*, *Journal of Neurochemistry*, *Drug Metabolism and Disposition*, *Biochemical Pharmacology* oraz *Drug Metabolism Reviews*. We wszystkich pracach dr Anna Haduch jest pierwszym autorem.

W przedstawionym cyklu publikacji dr Anna Haduch opisała udział mózgowego cytochromu CYP2D w syntezie serotoniny za pośrednictwem O-demetylacji 5-metoksytryptaminy, która stanowi alternatywną ścieżkę syntezy neuroprzekaźnika. Badania zostały przeprowadzone na modelu eksperymentalnym szczurów. W czasie prowadzonych badań, Habilitantka po raz pierwszy wykazała funkcjonowanie alternatywnej ścieżki syntezy serotoniny katalizowanej przez CYP2D w mózgu *in vitro*, zademonstrowała metodą mikrodializy przebieg tej reakcji *in vivo*. Ponadto wykazała drogą eksperymentalną, że melatonina podana dootrzewnowo wspomaga produkcję serotoniny za pośrednictwem CYP2D w mózgu *in vivo*. Po raz pierwszy potwierdziła również zmiany funkcjonowania CYP2D w różnych rejonach mózgowia podczas starzenia i w warunkach znacznego deficytu serotoniny oraz potwierdziła zróżnicowanie płciowe w regulacji CYP2D w mózgowiu. Badania przeprowadzone przez dr Annę Haduch udowodniły aktywację mózgowego CYP2D przez niektóre leki tj. escitalopram czy wenlafaksyna,

W pierwszej pracy cyklu: "The catalytic competence of cytochrome P450 in the synthesis of serotonin from 5-methoxytryptamine in the brain: an in vivo study" opublikowanej w *Pharmacological Research* w 2013 r., IF 3,976, wysunięto wniosek, że szczurze mózgowie enzymy CYP2D katalizują O-demetylację 5-MT do serotoniny a spadek aktywności lub defekt genetyczny CYP2D hamują istotnie tą ścieżkę metaboliczną w mózgowiu. Na podstawie badań porównawczych in vitro wykazano, że ta reakcja zachodzi w większym stopniu u człowieka niż u gryzoni. W powyższej pracy autorka potwierdziła po raz pierwszy syntezę serotoniny alternatywną ścieżką w mózgowiu. Ponadto potwierdziła, że synteza ta była hamowana przez inhibitory CYP2D - chininę i fluoksetynę.

Wyniki badań przedstawionych w drugiej pracy cyklu: "The cytochrome P450 2D-mediated formation of serotonin from 5-methoxytryptamine in the brain in vivo: a microdialysis study", opublikowanej w *Neurochemistry Journal* w 2015 r, IF 3,842 potwierdziły możliwość funkcjonowania syntezy serotoniny z 5-metoksytryptaminy w mózgowiu szczura in vivo. Inhibicja szczurzego CYP2D przez chininę dodatkowo udowodniła rolę tego cytochromu w powyższej syntezie.

W trzeciej pracy cyklu: "Melatonin Supports CYP2D-Mediated Serotonin Synthesis in the Brain ", *Drug Metabolism and Disposition*, 2016 r, IF 4,242, Habilitantka skupiła się na określeniu wpływu melatoniny na alternatywną ścieżkę syntezy serotoniny z 5-metoksytryptaminy. W badaniu wykazała, że podana dootrzewnowo melatonina wspomaga katalizowaną przez CYP2D syntezę serotoniny z 5-metoksytryptaminy. Wzrostowi stężenia serotoniny po podanej egzogennie melatoninie zapobiegały inhibitory CYP2D - chinina i

propafenon. Na podstawie badań wysunięto przypuszczenie, że metabolizm egzogennej melatoniny do serotoniny może stanowić dodatkowy komponent działania farmakologicznego melatoniny oprócz jej profilu receptorowego oraz właściwości przeciwutleniających.

Celem czwartej pracy cyklu: "The activity of brain and liver cytochrome P450 (CYP2D) is differently affected by antidepressants in the chronic mild stress (CMS) model of depression in the rat", opublikowanej w 2018 r. w *Biochemical Pharmacology*, IF 4,825 była analiza wpływu wybranych leków przeciwdepresyjnych (escitalopramu i wenlafaksyny) na aktywność CYP2D w mózgu i wątrobie w warunkach łagodnego stresu w zwierzęcym modelu depresji szczura. Na podstawie przeprowadzonych badań Habilitantka wysunęła wniosek, że pobudzenie alternatywnej ścieżki syntezy serotoniny poprzez aktywację CYP2D uczestniczy w mechanizmach zmierzających do przywrócenia homeostazy tego neuroprzekaźnika w mózgu. Z pracy wynikają istotne wnioski praktyczne określające nową składową działania farmakologicznego escitalopramu i wenlafaksyny polegającą na wpływie aktywacji CYP2D na metabolizm endogennych substratów tego enzymu w mózgu. W trakcie podawania powyższych leków, metabolizm substratów CYP2D w wątrobie może być spowolniony.

W piątej pracy cyklu: "The effect of ageing and cerebral serotonin deficit on the activity of cytochrome P450 2D (CYP2D) in the brain and liver of male rats" opublikowanej na łamach *Neurochemistry International* w 2020 roku, IF 3,921, Habilitantka skupiła się nad badaniem wpływu starzenia oraz deficytu serotoniny w mózgu na aktywność CYP2D w mózgu i wątrobie samców i samic szczura. W powyższej pracy wykazano, że starzenie się i deficyt hydroksylazy

tryptofanu 2 wpływają na aktywność CYP2D u samców szczurów. Może mieć to pozytywny wpływ na syntezę neuroprzekaźników w strukturach mózgu zaangażowanych w funkcje poznawcze, emocjonalne i motoryczne ale jednocześnie negatywny wpływ na metabolizm leków w wątrobie samców szczurów.

Celem, szóstej pracy cyklu: "Cytochrome P450 2D (CYP2D) enzyme dysfunction associated with aging and serotonin deficiency in the brain and liver of female Dark Agouti rats", *Neurochemistry International*, 2022, IF 3,921, była analiza aktywności i poziomu białka CYP2D podczas starzenia oraz w warunkach niedoboru serotoniny w mózgowiu szczurów. Z badania wypływa wniosek dotyczący odmiennego wpływu starzenia i deficytu serotoniny na funkcjonowanie mózgowego CYP2D u samic i samców szczura. Wyniki pracy wskazują dodatkowo na spowolnienie metabolizmu neurosteroidów o działaniu neuroprotekcynym u samic szczurów.

Ostatnia siódma praca cyklu nosi tytuł: "The engagement of brain cytochrome P450 in the metabolism of endogenous neuroactive substrates: a possible role in mental disorders" i opublikowana została na łamach *Drug Metabolism Reviews* w 2018 roku, IF 4,702. Jest to praca przeglądowa stanowiąca dyskusję dotyczącą problemów poruszanych w 6 pracach oryginalnych. W tej publikacji Habilitantka podkreśla m.in. istotną rolę mózgowych enzymów CYP w farmakoterapii chorób psychicznych tj. depresja czy schizofrenia. Enzymy te mogą mieć istotny wpływ na modyfikację działania leków w miejscu ich docelowego działania farmakologicznego co stanowi element działania farmakologicznego obok ich profilu receptorowego. Należy

podkreślić, że wiedza ta być może pozwoli w przyszłości opracować bardziej ukierunkowaną, skuteczną i bezpieczną psychofarmakoterapię.

Podsumowując ocenę osiągnięcia naukowego należy stwierdzić, że dr Anna Haduch zajęła się ważnym problemem dotyczącym udziału cytochromu P450 w metabolizmie substratów istotnych dla prawidłowego funkcjonowania mózgu. Prace wchodzące w skład osiągnięcia naukowego są spójne tematycznie, mają dużą wartość merytoryczną i naukową. Badania były wykonane na modelu zwierzęcym szczurów a ich wyniki sugerują potrzebę dalszej oceny w badaniach klinicznych. Publikacje stanowią własny, oryginalny dorobek naukowy Habilitantki. Podkreślenia wymaga fakt pierwszego autorstwa we wszystkich siedmiu pracach cyklu. Wysoki IF cyklu prac podkreśla ich duże znaczenie naukowe. Jediną nieścisłością wydaje się to, iż praca przeglądowa, stanowiąca, jak podkreśla Habilitantka, dyskusję dotyczącą problemów badanych w 6 pracach oryginalnych, została opublikowana w 2018 roku a więc 2 i 4 lata przed dwiema ostatnimi pracami cyklu. Niemniej jednak w żadnym stopniu nie umniejsza to dużego znaczenia naukowego opublikowanych przez Habilitantkę badań.

II. Ocena pozostałego dorobku naukowego, dydaktycznego i zawodowego

Dr Anna Haduch uzyskała w 1995 roku tytuł magistra biologii na Wydziale Biologii i Nauk o Ziemi, Uniwersytetu Jagiellońskiego w Krakowie. W 2004 roku uzyskała stopień doktora nauk medycznych w zakresie biologii medycznej na podstawie rozprawy doktorskiej: "Wpływ leków psychotropowych na aktywność izoenzymów rodziny drugiej i trzeciej

cytochromu P-450" w Instytucie Farmakologii PAN w Krakowie, której promotorem była Prof. dr hab. Władysława Anna Daniel. Od 1995 roku dr Anna Haduch jest pracownikiem Zakładu Farmakokinetyki i Metabolizmu Leków Instytutu Farmakologii PAN w Krakowie. Od 2012 roku jest adiunktem w Zakładzie Farmakokinetyki i Metabolizmu Leków Instytutu Farmakologii PAN w Krakowie.

IIa. Ocena dorobku naukowego

Dorobek naukowy poza publikacjami wchodzącymi w skład osiągnięcia naukowego, uzyskany po otrzymaniu stopnia doktora, obejmuje 34 oryginalne publikacje, 3 prace pogładowe. Warty podkreślenia jest fakt, że po uzyskaniu stopnia doktora, Anna Haduch opublikowała 11 prac zawierających wyniki badań, które stanowiły podstawę jej pracy doktorskiej. Dr Anna Haduch kontynuowała współpracę międzynarodową z prof. Laszlo Vereczkey w zakresie wpływu leków przeciwdepresyjnych na aktywność wątrobowego cytochromu P450, co zaowocowało publikacją w *Pharmacological Reports* w 2006 roku.

W 2005 roku dr Anna Haduch uzyskała finansowanie z Ministerstwa Edukacji i Nauki dla autorskiego projektu badań dotyczących wpływu leków przeciwdepresyjnych na poziom i aktywność cytochromu P450 w mózgu szczura. W latach 2009-2012 była zaangażowana w realizację projektu finansowanego przez Ministerstwo Nauki i Szkolnictwa Wyższego "Wpływ układu noradrenergicznego mózgu na ekspresję cytochromu P450 w wątrobie szczura. Podczas 17 Międzynarodowego Kongresu Polskiego Towarzystwa

Farmakologicznego Habilitantka otrzymała nagrodę zespołową za prezentację plakatową wyników swoich badań. W 2013 i w 2016 roku otrzymała jako pracownik naukowy Zakładu Farmakokinetyki i Metabolizmu Leków wyróżnienie QUALITAS. Habilitantka uczestniczyła jako główny wykonawca Zadania Badawczego 3.4 "Znaczenie mózgowego cytochromu P450 w metabolizmie serotoniny, neuroprzekaźnika o istotnym znaczeniu w depresji. Wpływ defektu genetycznego CYP2D6" w ramach grantu współfinansowanego przez Unię Europejską w ramach Programu Operacyjnego Innowacyjna Gospodarka pt."Depresja - Mechanizmy - Terapia" DeMeTer (2010-2014) kierowanego przez Prof. dr hab. Krzysztofa Wędzonego. Wyniki badań wchodzących w skład projektu zostały zaprezentowane na kilku międzynarodowych konferencjach oraz w postaci kilku oryginalnych publikacji.

Istotnym tematem badawczym podjętym przez dr Annę Haduch jest wpływ stresu na cytochrom P450. Badania nad tym zagadnieniem realizuje w ramach współpracy zarówno z ośrodkami krajowymi jak również we współpracy międzynarodowej. Habilitantka uczestniczyła w badaniach prowadzonych w ramach grantów Narodowego Centrum Nauki (2014-2017) : "Znaczenie serotonergicznego unerwienia podwzgórza mózgu w regulacji cytochromu P450" oraz uczestniczy w badaniach w ramach grantu pt.: "Rola układu glutaminergicznego mózgu w neuroendokrynnej regulacji ekspresji i aktywności cytochromu P450 w wątrobie" jako główny wykonawca.

Wartym podkreślenia jest fakt kierowania przez dr Annę Haduch polskim zespołem należącym do międzynarodowego konsorcjum, które złożyło w 2022 roku wniosek projektu badawczego ROSSCA, który dotyczy opracowania nanocząsteczek wyposażonych w syntetyczną aktywność naśladującą działanie

enzymów antyoksydacyjnych katalazy, peroksydazy glutationowej i dysmutazy ponadtlekowej, których funkcje będą aktywowane polem magnetycznym. Realizacja tego projektu ma przyczynić się do opracowania terapii wspomagającej leczenie choroby Alzheimerera.

W czasie pracy naukowej, dr Anna Haduch podjęła współpracę z kilkoma zespołami badawczymi Instytutu Farmakologii PAN w Krakowie, czego wynikiem było kilka publikacji w czasopismach o zasięgu międzynarodowym.

Analiza bibliometryczna dorobku Habilitantki po uzyskaniu stopnia doktora to IF 120,046, MNiSW 1581 pkt.

Index Hirscha 17.

Zainteresowania naukowe Habilitantki koncentrują się wokół roli mózgowego cytochromu P450 w metabolizmie leków stosowanych w leczeniu chorób ośrodkowego układu nerwowego. Warto zaznaczyć, że praca naukowa, która była zapoczątkowana przed uzyskaniem stopnia doktora była kontynuowana po jego uzyskaniu, co zaowocowało znacznym zwiększeniem dorobku naukowego (IF przed stopniem doktora 14,688, po uzyskaniu stopnia doktora 120,046). Należy podkreślić, że dr Anna Haduch podejmując współpracę w ramach międzynarodowego projektu ROSSCA planuje poszerzyć swój warsztat naukowy. Realizacja tego projektu może przyczynić się do stworzenia innowacyjnej terapii choroby Alzheimerera.

IIb. Ocena dorobku dydaktycznego, organizacyjnego i zawodowego

Działalność dydaktyczna dr Anny Haduch obejmuje sprawowanie opieki nad nowymi pracownikami Zakładu Farmakokinetyki i Metabolizmu Leków IF PAN polegającej na uczeniu metod badawczych, które są stosowane w zakładzie. Ponadto służyła pomocą w badaniach w ramach prac magisterskich oraz doktorskich. W ramach działalności popularyzujących naukę brała udział w Festiwalu Nauki w Krakowie oraz opublikowała artykuł w czasopiśmie popularnonaukowym. Dr Anna Haduch jest członkiem Polskiego Towarzystwa Farmakologicznego, gdzie aktualnie pełni funkcję w komisji skrutacyjnej przy Zarządzie Oddziału Krakowskiego, członkiem Europejskiego Związku Towarzystw Farmakologicznych oraz Międzynarodowej Unii Farmakologii Podstawowej i Klinicznej.

III. Wniosek końcowy

W podsumowaniu pragnę podkreślić, że osiągnięcie naukowe dr Anny Haduch: "Udział cytochromu P450 (CYP) w metabolizmie substratów istotnych dla prawidłowego funkcjonowania mózgu. Znaczenie fizjologiczne i farmakologiczne" jest jej własnym oryginalnym dorobkiem naukowym. Stwierdzam, że kandydatka w pełni opanowała warsztat naukowo-badawczy. Dorobek naukowy kandydatki jest bardzo bogaty, wartościowy i świadczy o umiejętności interpretowania uzyskanych wyników oraz o jej całkowitej samodzielności naukowej. Osiągnięcie naukowe dr Anny Haduch ubiegającej się o nadanie stopnia doktora habilitowanego stanowi znaczący wkład w rozwój dyscypliny nauki medycyny, dziedziny nauk medycznych i nauk o zdrowiu.

Stwierdzam jednoznacznie, że dr Anna Haduch spełnia wymagania stawiane w ustawie kandydatom w postępowaniu o nadanie tytułu naukowego doktora habilitowanego.

Zgodnie z art. 219 Ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (dziennik ustaw 2021, poz. 478 z późniejszymi zmianami) stwierdzam, że kandydatka spełnia kryteria uzyskania stopnia doktora habilitowanego. Wnoszę do Wysokiej Rady Naukowej Instytutu Farmakologii im. Jerzego Maja Polskiej Akademii Nauk w Krakowie o dopuszczenie dr Anny Haduch do dalszych etapów przewodu habilitacyjnego.

Marcin Wirtwein

Dr hab. Marcin Wirtwein

Katedra i Zakład Farmakologii
Gdański Uniwersytet Medyczny