

Warszawa 26 sierpień 2021 r.

Ocena osiągnięcia naukowego

„Metabotropowe receptory glutaminianergiczne grupy III oraz receptory Y2 i Y5 jako potencjalne cele terapii neuroprotektoryjnej i/lub przeciwdepresyjnej”

oraz dorobku naukowego, dydaktycznego i organizacyjnego

dr n. med. Heleny Domin

w związku z postępowaniem o nadanie stopnia naukowego doktora habilitowanego

Rada Naukowa Instytutu Farmakologii im. Jerzego Maja Polskiej Akademii Nauk w Krakowie w dn. 9. czerwca 2021 r., na podstawie art. 28 ust. 4 art. 221 ust. 5 o Szkolnictwie Wyższym i Nauce (Dz. U. z 2020 poz. 85) powołała Komisję Habilitacyjną w postępowaniu o nadanie stopnia doktora habilitowanego w dziedzinie nauk medycznych i nauk o zdrowiu w dyscyplinie nauk medycznych dr. n. med. Helenie Domin. Uchwałą nr 28/Z/2021 z dnia 9 czerwca 2021 powierzając mi funkcję recenzenta.

Pani Helena Domin jest absolwentką Wydziału Biologii i Nauk o Ziemi Uniwersytetu Jagiellońskiego w Krakowie. Dyplom magistra biologii uzyskała w 2002 r, a od 2003 r. została uczestnikiem studiów doktoranckich Instytutu Farmakologii PAN w Krakowie. W 2008 r. decyzją Rady Naukowej tegoż Instytutu uzyskała stopień doktora nauk medycznych w zakresie biologii medycznej. Przedmiotem rozprawy doktorskiej, przygotowanej pod kierunkiem Pani Prof. dr. hab. Marii Śmiałowskiej, było „Neuroprotektoryjne działanie ligandów glutaminianergicznych receptorów metabotropowych oraz ligandów receptorów dla neuropeptydu Y”. Kariera zawodowa Habilitantki jest nierozdzielnie związana z Zakładem Neurobiologii IF PAN. Od 2008 r., zaczynając od etatu pracownika inżynierijno-technicznego, konsekwentnie „pokonywała” kolejne szczeble kariery pracownika naukowego, osiągając w 2018 r. stanowisko adiunkta.

Podstawę osiągnięcia naukowego pt. „Metabotropowe receptory glutaminianergiczne grupy III oraz receptory Y2 i Y5 jako potencjalne cele terapii neuroprotekcijnej i/lub przeciwdepresyjnej” stanowi cykl spójnie powiązanych tematycznie sześciu oryginalnych artykułów naukowych o zasięgu międzynarodowym opublikowanych w latach 2015-2019.

Zmiany patologiczne występujące w schorzeniach neurologicznych czy zaburzeniach psychicznych wynikające z zaburzenia homeostazy czynnościowej mózgu, jako konsekwencja nadaktywności układu glutaminianergicznego oraz brak skutecznych strategii terapeutycznych w leczeniu tych patologii stanowiło podstawę sformułowania przez Habilitantkę głównych kierunków badań: (i) potencjalnego neuroprotekcijnego działania ligandów metabotropowych receptorów glutaminianergicznych grupy III oraz ligandów receptorów Y2 i Y5 w eksperymentalnych modelach ischemii (publikacje 1-4); (ii) potencjalnego przeciwdepresyjnego działania ligandów receptorów Y2 i Y5 (publikacje 5-6).

W publikacjach 1 i 2 do weryfikacji neuroprotekcyjnych właściwości 8 wybranych ligandów receptorów mGlu gr. III Autorka wykorzystwała eksperymentalny model ischemii *in vitro* oparty o hodowle neuronów. Komórki były izolowane z kory mózgowej embrionów mysich, a następnie poddane deprivacji tlenu i glukozy (model OGD, ang. *oxygen and glucose deprivation*). W badaniach wykazano neuroprotekcijną aktywność ACPT-I, agonisty ortosterycznego mGluR III, oraz AMN082, agonisty allosterycznego mGluR7, zastosowanych w sposób opóźniony w stosunku do momentu inicjacji procesu niedokrwienia. Co więcej, wykazano, że oba związki obniżają aktywację kalpain wskazując, że w zastosowanym modelu OGD śmierć komórek zachodzi na drodze indukcji nekrozy. Zwrócono również uwagę, że ACPT-I obniża uwalnianie glutaminianu, co miało bezpośrednie przełożenie na obniżenie poziomu ekscytotoksyczności, jak również na fakt, że mechanizm neuroprotekcijnego działania badanego ligandu związany był z zahamowaniem aktywności szlaku przekazywania sygnału cAMP/PKA. Co ważne, Habilitantka podjęła próbę potwierdzenia wyników uzyskanych metodą *in vitro* na modelu *in vivo* (publikacja 2 i 3). W tej części badań eksperymentalnych wywoływano przejściowe ogniskowe niedokrwienie mózgu przez tymczasowe zamknięcie prawej tętnicy środkowej mózgu (model MCAO, ang. *middle cerebral artery occlusion*) u szczurów normotensyjnych oraz obciążonych nadciśnieniem tętniczym. W efekcie nie tylko potwierdzono zmniejszenie obszarów uszkodzeń kory mózgowej i prądkowia po zastosowaniu ACPT-I, ale

jednocześnie wykazano znaczną poprawę funkcji motorycznych zwierząt przy zastosowaniu odpowiednich testów behawioralnych stosowanych do oceny deficytów neurologicznych.

W podobny sposób pod względem metodologicznym Habilitantka oceniała potencjał neuroprotekcyny neuropeptydu Y (NPY) oraz jego pochodnych pobudzających receptory Y1, Y2 oraz Y5 w modelu eksperymentalnej ischemii *in vitro*. Wyniki tych badań opisano w publikacji 4, w której po raz pierwszy wykazano neuroprotekcyjne działanie NPY, a także agonistów receptorów Y2 oraz Y5 podawanych w sposób opóźniony wobec rozpoczęcia uszkodzenia ischemicznego.

Uzyskane wyniki mają duże znaczenie w kontekście klinicznym, bowiem niedokrwienny udar mózgu jest częstym epizodem w przebiegu m.in. chorób sercowo-naczyniowych, a jego konsekwencje dla wielu pacjentów kończą się różnego stopnia niepełnosprawnością. Stąd czas i sposób interwencji farmakologicznej ma niebagatelne znaczenie. Co więcej, prowadzone w ramach badań poszukiwanie przez Habilitantkę nowych, bardziej skutecznych, a także o większej biodostępności i selektywności małych cząsteczkowych agonistów badanych receptorów ma wysokie uzasadnienie w kontekście wspomnianych potrzeb klinicznych.

Wyniki badań opublikowane w dwóch ostatnich artykułach (5 i 6) dotyczą poszukiwania nowych możliwości terapeutycznych w depresji, skrajnie różnej jednostce chorobowej w stosunku do udaru niedokrwiennego, jednakże stanowiącej niezwykle aktualny, szczególnie w dobie zaistniałej sytuacji pandemicznej, oraz narastający problem o znaczeniu medycznym, jaki i społecznym.

Habilitantka wykorzystując szczurzy model depresji, wywołanej podaniem gliotoksyny L-AAA (kwas L-alfa aminoadipinowy) do kory przedczołowej przyśrodkowej (mPFC, ang. *medial prefrontal cortex*), potwierdziła rolę antagonistów receptorów Y2 i Y5 (odpowiednio SF-11 oraz Lu AA33810) w „modulacji” stanów depresyjnych. Co więcej, jako pierwsza wykazała, że szlaki przekazywania sygnału MAPK/ERK oraz PI3-K leżą u podstaw przeciwdepresyjnego działania obu związków. Na uwagę zasługuje również fakt, że dla ligandu SF-11 (selektywny antagonist receptorów Y2, przenikający barierę krew-mózg) przeprowadzono pełną analizę właściwości fizyko-chemicznych, które odpowiadają za jego właściwości biologiczne dając tym samym podstawy, czy nadając kierunek badań innym zespołom naukowym do projektowania nowych małych cząsteczkowych antagonistów receptorów Y2 o lepszych parametrach biologiczno-chemicznych.

Podsumowując, przeprowadzone badania pozwoliły na wyznaczenie nowego kierunku badań w kontekście nowych możliwości terapeutycznych w stosunku do chorych po przebytych udarach mózgu lub w stanach depresji. Dlatego uzyskane przez Habilitantkę wyniki są istotne nie tylko z poznawczego punktu widzenia, ale w przyszłości mogą stanowić podstawę do opracowywania bardziej skutecznych strategii terapeutycznych.

We wszystkich publikacjach stanowiących osiągnięcie naukowe występuje wielu autorów, ale Habilitantka jest zarówno pierwszym autorem jak i autorem do korespondencji. Świadczy to o znaczącym wkładzie własnym Habilitantki w proces planowania i realizacji badań oraz w powstanie ostatecznych wersji tych publikacji. Aktywność Habilitantki w tym zakresie została potwierdzona oświadczeniami współautorów, a wartość naukowa publikacji jest wysoka. Prace zostały opublikowane w czasopiśmie z *Listy Filadelfijskiej* i współczynnikiem oddziaływania *IF* od 3.222 do 5.012.

Jak wspomniano wcześniej Pani Dr Helena Domin swoją przygodę z neurobiologią rozpoczęła w trakcie studiów doktoranckich, konsekwentnie rozszyfrowując rolę metabotropowych receptorów glutaminianergicznym, receptorów Y i ich ligandów w kontekście neuroprotekcji, a w późniejszym czasie również aktywności przeciwdepresyjnej. Pani Dr Helena Domin wydaje się być niezwykle sprawnym i obiecującym naukowcem, z dużym potencjałem koncepcyjnym oraz przygotowaniem warsztatowym. Dorobek publikacyjny Habilitantki obejmuje 31 prac o łącznym *IF* =112.199 oraz 1 rozdział w publikacji książkowej. Wspomniane prace były cytowane 453 razy, a indeks Hirscha (wg. bazy WoS) wynosi 14. Na uwagę zasługuje fakt, iż Habilitantka skutecznie pozyskuje do swoich projektów współpracowników z innych ośrodków naukowych w Polsce tj. Akademia Górniczo-Hutnicza w Krakowie, Instytut Fizyki Jądrowej PAN w Krakowie, Wydział Farmaceutyczny UJ Collegium Medicum w Krakowie, Instytut Nauk Biologicznych Uniwersytetu Marii Curie-Skłodowskiej w Lublinie czy Instytut Medycyny Doświadczalnej i Klinicznej PAN w Warszawie (IMDiK PAN). Owocnym efektem współpracy z IMDiK są nie tylko publikacje, ale również rola promotora pomocniczego pracy doktorskiej jednego z pracowników Pracowni Neurochirurgii Doświadczalnej i Klinicznej IMDiK. Pani Dr Helena Domin uczestniczyła również w realizacji licznych projektów finansowanych przez Ministerstwo Nauki i Szkolnictwa Wyższego, Narodowe Centrum Nauki, Narodowe Centrum Badań i Rozwoju czy Polsko-Norweski Fundusz Badań Naukowych. Pewien niedosyt w odniesieniu do udziału w w/w projektach stanowi

fakt, iż Habilitantka była jedynie wykonawcą, a nie kierownikiem wieloletnich grantów. Mając jednak na uwadze realia i dużą konkurencję w pozyskiwaniu finansowania na realizację projektów własnych, zakładam, że nie jest to efekt braku inicjatywy ze strony Pani Doktor. Niedosyt budzić może także fakt braku długoterminowego stażu podoktorskiego, najlepiej w ośrodku zagranicznym (pobyt w Holandii w 2019 roku traktować należy bardziej jako udział w kilkudniowym kursie...). Niemniej o rozpoznawalności Habilitantki w środowisku naukowym świadczą zaproszenia do wykonania recenzji dla uznanych czasopism naukowych (zrecenzowanych 37 manuskryptów), a także recenzji zagranicznego doktoratu dla University of Newcastle, Australia. Habilitantka jest również członkiem redakcji (*Review Editor*) czasopisma *Frontiers Cellular Neuroscience* w dziale tematycznym *Cellular Neuropathology*.

W ramach dodatkowych aktywności Pani Doktor sprawowała opiekę naukową nad studentami odbywających praktyki w IF PAN, prowadziła warsztaty z technik histologicznych i mikroskopii w ramach Festiwalu Nauki i Sztuki, jest również współautorką dwóch popularyzatorskich artykułów w języku polskim przygotowanych dla czasopisma *Wszechświat*.

W moim przekonaniu, jako recenzenta, osiągnięcie habilitacyjne Pani Hanny Domin „Metabotropowe receptory glutaminianergiczne grupy III oraz receptory Y2 i Y5 jako potencjalne cele terapii neuroprotekcijnej i/lub przeciwdepresyjnej”, jak i całokształt dorobku naukowego, nie budzą wątpliwości i są wystarczające do przeprowadzenia postępowania habilitacyjnego zgodnie z wymaganiami zawartymi w Ustawie z dnia 20 lipca 2018, Prawo o Szkolnictwie Wyższym i Nauce (Dz.U. z 2018 r. poz 1668) i stanowią podstawę do nadania Dr Helenie Domin stopnia naukowego doktora habilitowanego. Dlatego zwracam się do Rady Naukowej Instytutu Farmakologii im. Jerzego Maja Polskiej Akademii Nauk w Krakowie z wnioskiem o dopuszczenie do dalszych etapów postępowania habilitacyjnego.

Dr hab. n. farm. Sylwia Flis, prof. NIL
Kierownik Zakładu Farmakologii
Narodowy Instytut Leków w Warszawie