



Instytut Farmakologii
Polskiej Akademii Nauk

Zakład Neuroendokrynologii Doświadczalnej

INSTYTUT FARMAKOLOGII
POLSKIEJ AKADEMII NAUK
ul. Smętna 12
31-343 Kraków
Dyrektor
telefon: (12) 662 32 96
(12) 637 48 93

Centrala
telefon: (12) 662 32 20
(12) 637 40 22
fax: (12) 637 45 00
e-mail: ifpan@if-pan.krakow.pl
www.if-pan.krakow.pl

OCENA

Dorobku naukowego, monotematycznego cyklu prac pt.: „Badania proteomiczne nad mózgiem w aspekcie depresji i schizofrenii oraz działania leków stosowanych w terapii tych chorób” oraz działalności dydaktycznej i organizacyjnej

dr nauk biologicznych Sylwii Kędrackiej-Krok

adiunkta w Zakładzie Biochemii Fizycznej na Wydziale Biochemii, Biofizyki i Biotechnologii Uniwersytetu Jagiellońskiego w Krakowie

w postępowaniu habilitacyjnym

1. Dane ogólne

Dr Sylwia Kędracka-Krok w roku 1995 ukończyła studia na Wydziale Chemii Uniwersytetu Jagiellońskiego (UJ) w Krakowie i uzyskała dyplom magistra chemii. W tym samym roku ukończyła także Studium Pedagogiczne UJ i otrzymała świadectwo kwalifikacji pedagogicznych do pracy nauczycielskiej. W październiku 1995 roku podjęła pracę w Zakładzie Biochemii Fizycznej Instytutu Biologii Molekularnej UJ na stanowisku asystenta, którą kontynuowała do grudnia 2008 roku. Pracę doktorską pt. „Kinetyczne i równowagowe badania oddziaływań tetracykliny i DNA z represorem tetracykliny” wykonała pod kierunkiem prof. dr hab. Zygmunta Wasylewskiego i obroniła z wyróżnieniem w roku 2004. Prowadząc działalność naukowo-badawczą oraz dydaktyczną dr Kędracka-Krok awansowała od stycznia 2009 roku na stanowisko adiunkta w Zakładzie Biochemii Fizycznej na Wydziale Biochemii, Biofizyki i Biotechnologii UJ. Przedstawiony powyżej w zarysie życiorys naukowy dr Sylwii Kędrackiej-Krok świadczy o jej motywacji do pracy naukowo-badawczej oraz przemysłanej konsekwentnej realizacji obranej ścieżki zawodowej.

2. Ocena dorobku naukowego

Dorobek naukowy dr Sylwii Kędrackiej-Krok obejmuje 39 prac, w tym 38 oryginalnych oraz 1 pracę przeglądową (wg Journal Citation Reports, JCR). Na podkreślenie zasługuje fakt, iż dr Kędracka-Krok 36 z tych prac opublikowała po uzyskaniu stopnia doktora, a jedynie 3 przed doktoratem. Według danych bibliometrycznych łączny współczynnik wpływu (IF) prac

habilitantki opublikowanych i zamieszczonych w bazie JCR wynosi 131.60, a biorąc pod uwagę pięcioletni IF czasopism 134.70, co przekłada się na 1175 punktów MNiSW. Liczba cytowań wynosi 328 (311 bez autocytowań), a indeks Hirscha 11 (według bazy Web of Science). Habilitantka jest także współautorem jednej publikacji nieujętej w bazie JCR oraz dwóch rozdziałów w podręcznikach oraz jednej monografii. Dorobek naukowy dr Kędrackiej-Krok uzupełniają 53 komunikaty zjazdowe. Wymienione wskaźniki bibliometryczne świadczą o znacznej wartości dorobku naukowego dr Sylwii Kędrackiej-Krok, zwłaszcza wypracowanego po uzyskaniu stopnia naukowego doktora.

Dotychczasową efektywność dr Kędrackiej-Krok w pozyskiwaniu środków finansowych na badania naukowe ocenić można jako zadawalającą. Habilitantka była dotychczas kierownikiem dwóch projektów grantowych. W latach 2010-2014 kierowała finansowanym przez MNiSW projektem „Kompleksowa analiza proteomiczna zmian wywołanych klozapiną i risperidonem w mózgu szczura”, a od roku 2013 realizowanym do chwili obecnej projektem finansowanym przez NCN pt. „Określenie roli subpopulacji limfocytów T w depresji poprzez badania proteomiczne we krwi pacjentów”. Dr Kędracka-Krok pełniła także kierowniczą rolę w zadaniu badawczym w granicy zamawianym MNiSW, którego koordynatorem była prof. dr hab. Marta Dziedzicka-Wasylewska oraz kierownikiem wydziałowego projektu badawczego „Badania własności błon plazmatycznych komórek HEK293 transfekowanych plazmidem ekspresjonującym receptory neurotransmiterów: adenylicznego A2a oraz serotoninowego 5-HT1A w latach 2005-2006. Habilitantka uczestniczyła także w prowadzeniu badań w 7 innych projektach naukowych finansowanych głównie przez MNiSW, NCN oraz w ramach Funduszy Strukturalnych POIG.

Aktywność naukowa dr Kędrackiej-Krok zaowocowała także współpracą z dwoma firmami biotechnologicznymi BioCentrum sp. z o.o. (2010-2011) oraz Selvita (2013-2016), a obejmowała ona badania metodami polaryzacji fluorescencji oraz analizy proteomiczne. Habilitantka prowadziła również owocną współpracę z innymi ośrodkami badawczymi w kraju. Rozwój i podnoszenie kompetencji naukowo-badawczych umożliwiły Habilitantce szkolenia oraz staże badawcze krajowe i w ośrodkach zagranicznych w tym udział w organizowanym przez EMBO „Practical proteomic Course” w Barcelonie czy krótkoterminowe szkolenie w Institute of Physiology Center for Physiology and Pharmacology Medical University w Wiedniu. Dużą aktywność naukową Habilitantki potwierdza także Jej udział w wielu krajowych i międzynarodowych zjazdach, co dokumentuje wspomniane powyżej nie tylko współautorstwo abstraktów zjazdowych, ale także wygłoszone przez dr Kędracką-Krok referaty.

Tematem przewodnim zainteresowań badawczych dr Sylwii Kędrackiej-Krok od początku jej pracy naukowej są układy białkowe oraz nowoczesne wielopłaszczyznowe metody badań ich właściwości oraz funkcji. Z ważniejszych tematów/osiągnięć badawczych dr Kędrackiej-Krok nie będących częścią Jej dorobku habilitacyjnego warto wymienić: badania strukturalne i funkcjonalne białek regulatorowych, charakterystykę kinetyki represora tetracykliny z operatorowymi fragmentami DNA i ligandem–tetracykliną, co pozwoliło na lepsze poznanie procesu indukcji genów oporności bakterii Gram-ujemnych na ten antybiotyk. Habilitantka brała także udział w badaniach nad charakterystyką zmian allosterycznych białka CRP *E.coli*

indukowanych oddziaływaniem z cAMP, a także w badaniach trójskładnikowego kompleksu transkrypcyjnego, które pozwoliły na ilościową charakterystykę złożonych oddziaływań pomiędzy polimerazą RNA *E. coli*, a sekwencjami DNA dla promotora *lac i gal* w obecności i bez białka aktywowatorowego CRP. Dr Kędracka-Krok uczestniczyła również w pracach nad heterodimeryzacją receptora serotoninowego 5-HT_{2A} i dopaminowego D₂, charakterystyką białek Mdm2 i Mdmx z peptydami pochodzącymi z domen transaktywatorowych czynników transkrypcyjnych p53, p63 i p73, stabilnością termodynamiczną białka nukleokapsydu wirusa NL63 i jego domen oraz badała przejścia fazowe lipidowych dyspersji dwuskładnikowych DODAB/OA. Na podkreślenie zasługuje fakt, iż większość tych badań dr Kędracka-Krok prowadziła we współpracy z wiodącymi ośrodkami badawczymi w imponujący sposób wzbogacając swój warsztat badawczy. Od roku 2010 dr Sylwia Kędracka-Krok w swoich badaniach wykorzystuje rutynowo techniki spektrometrii mas, prowadząc oceny strukturalne białek, charakterystykę związków drobnocząsteczkowych, badania proteomiczne nad drobnoustrojami chorobotwórczymi, globalne badania proteomiczne z wykorzystaniem układów komórkowych w tym komórek macierzystych oraz badaniach modyfikacji potranslacyjnych białek.

Dorobek naukowy dr Sylwii Kędrackiej-Krok jest oryginalny, dowodzi doskonałego opanowania przez Habilitantkę nowoczesnych metod badawczych, a także umiejętności nie tylko planowania i prowadzenia badań naukowych, ale również efektywnego kierowania zespołami badawczymi. Jej dotychczasowa działalność naukowa została wielokrotnie doceniona przez przyznanie Habilitantce w latach 2004-2016 ośmiu nagród Rektora UJ, w tym dwóch indywidualnych oraz 6 zespołowych, głównie za oryginalne osiągnięcia naukowe, zaproszenia do wygłoszenia referatów na konferencjach o zasięgu międzynarodowym i współorganizowania konferencji naukowej, a także powierzenie roli recenzenta prac naukowych w czasopiśmie o uznanej renomie światowej np. *Journal of Affective Disorders* czy *Journal of Neurochemistry*.

3. Ocena monotematycznego cyklu prac stanowiących osiągnięcie naukowe w postępowaniu habilitacyjnym

Oceniane osiągnięcie naukowe pt.: „*Badania proteomiczne nad mózgiem w aspekcie depresji i schizofrenii oraz działania leków stosowanych w terapii tych chorób*” obejmuje cykl ściśle tematycznie powiązanych 5 publikacji. Prace te opublikowane zostały w latach 2010-2016 w czasopiśmie o zasięgu międzynarodowym i posiadają wysoki, łączny współczynnik oddziaływania IF=18.019; MNiSW=135. W czterech z nich Habilitantka jest autorem korespondencyjnym. Procentowy udział Habilitantki w przedstawionym do oceny cyklu prac wynosi od 45-60%, co potwierdzają załączone do dokumentacji oświadczenia Współautorów dotyczące ich udziału w powstaniu tych prac. Generalnie udział dr Kędrackiej-Krok w powstawaniu ocenianego osiągnięcia naukowego objętego postępowaniem habilitacyjnym obejmował przygotowanie oraz kierowanie projektami, które stanowiły podstawę finansowania badań przedstawionych w tych pracach, organizację pracowni proteomiki, a także spektrometrii mas, opracowanie procedur oraz protokołów badawczych pod kątem badań proteomicznych mózgu gryzoni, planowanie doświadczeń, analizę funkcjonalną i

statystyczną uzyskanych danych oraz interpretacje otrzymanych wyników, a także przygotowanie ostatecznej wersji manuskryptów.

Ogólnym celem badań przedstawionych w ocenianym cyklu była kompleksowa analiza profilu białkowego wybranych struktur mózgu szczurów w zwierzęcym modelu depresji opartym o procedurę chronicznego łagodnego stresu, a także ich modulacja pod wpływem leku przeciwdepresyjnego – imipraminy oraz charakterystyka zmian w mózgowym profilu białek po podaniach wybranych dwóch leków przeciwpsychotycznych – klozapiny i risperidonu. Należy jednak zaznaczyć, że oceniany cykl prac stanowiący podstawę osiągnięcia badawczego dr Kędrackiej-Krok obejmuje także dwie prace metodyczne, wnoszące informacje dotyczące optymalnych metod przygotowywania próbek białkowych pochodzących z tkanki mózgowej gryzoni do ilościowych analiz proteomicznych, Habilitantka w swoich badaniach przeprowadziła cykl analiz porównawczych dla różnych metod oczyszczania białek mózgowych, co zawarto w publikacji „*Comparison of methods for proteins precipitation of various rat brain structures prior to proteomic analysis*”. Zagadnienie to kontynuowała także w pracy: „*Optimized procedure of extraction, purification and proteomic analysis of nuclear proteins from mouse brain*” przedstawiając wydajną i powtarzalną metodę przygotowania mózgowego subproteomu jądrowego pod kątem ilościowych badań proteomicznych wykorzystującą nie tylko dwuwymiarową elektroforezę (2DE), ale także technikę *shotgun* z użyciem spektrometru typu QTOF. W kolejnych pracach ocenianego cyklu dr Kędracka-Krok wykorzystwała również metodę dwuwymiarowej elektroforezy ze znakowaniem fluorescencyjnym 2D-DIGE, połączoną z identyfikacją białek metodą LC-MS/MS, a uzupełnioną zgodnie ze standardami o technikę *western blot*. Dwie wspomniane powyżej prace przyczyniły się do istotnego wzrostu standaryzacji badań proteomicznych, a ich przydatność potwierdza liczba cytowań wynosząca około 50.

Problem badawczy podjęty i przedstawiony przez dr Kędracką-Krok w kolejnych pracach cyklu jest istotny głównie z poznawczego punktu widzenia, co nie wyklucza w przyszłości możliwości jego praktycznego wykorzystania w terapii chorób ośrodkowego układu nerwowego w tym depresji i schizofrenii, których etiopatogeneza pomimo wielu lat badań nadal pozostaje niewyjaśniona. Z najważniejszych wyników przedstawionych przez Habilitantkę w oparciu o ten cykl prac warto podkreślić wykazanie, że u szczurów w modelu depresji (poddanych procedurze chronicznego łagodnego stresu) dochodzi do zmian w proteomie zakrętu zębatego hipokampa (praca: „*Effect of chronic mild stress and imipramine on the proteome of the rat dentate gyrus*”). Zmiany te obejmują różne panele białkowe, w tym białka enzymatyczne (np. alfa enolaza, aldolaza C, galaktokinazę 1, dehydrogenaza jabłczanowa1), białka wiążące wapń (np. kalmodulina, aneksyna A3), białka regulatorowe (np. F-box protein 2, poly C binding protein) oraz białka synaptyczne (np. izoforma IIb synapsyny, Ash-m/Grb2). Habilitantka wykazała, że chroniczne podania imipraminy – klasycznego, trójcyklicznego leku przeciwdepresyjnego odwracają jedynie w przypadku 4 białek deficyty wywołane procedurą stresu. Imipramina modulowała białka regulujące funkcje synaptyczne: Ash-m/Grb2, NIPNSAP1, dynaktyna oraz enzym glikolityczny alfa endolaze. Nie stwierdzono natomiast istotnego wpływu podań pulsacyjnych imipraminy w zwierzęcym modelu depresji na zmiany w zakręcie zębatym hipokampa. Chociaż dokładne

poznanie znaczenia funkcjonalnego zaobserwowanych przez dr Kędracką-Krok zmian zarówno w modelu depresji jak i po podaniach imipraminy wymaga dalszych badań, już dzisiaj niektóre z uzyskanych wyników wydają się być interesujące zwłaszcza w kontekście badań nad białkowymi markerami depresji. W tym kontekście rozpatrzeć można wspomniany powyżej enzym glikolityczny, którego specyficzną ekspresję wykazano jedynie w komórkach astrocytarnych hipokampa.

Dr Sylwia Kędracka-Krok w cyklu ocenianych prac przedstawiła także charakterystykę zmian w proteomie kory czołowej i jądra półleżącego przegrody pod wpływem wielokrotnych 21-dniowych podań leków przeciwpsychotycznych – klozapiny oraz risperidonu, a uzyskane wyniki zamieściła w dwóch pracach: „*Clozapine influences cytoskeleton structure and calcium homeostasis in rat cerebral cortex and has a different proteomic profile than risperidone*” oraz „*Stathmin reduction and cytoskeleton rearrangement in rat nucleus accumbens in response to clozapine and risperidone treatment*”. Najbardziej charakterystycznymi białkami różnicowymi w analizach obydwu struktur mózgu były białka z rodziny CRPMs (*collapsin-response-mediator proteins*). W dotychczasowych badaniach postulowana jest rola tych białek zarówno w procesach rearanżacji cytoszkieletu mikrotubularnego, w modulacji morfogenezy wypustek neuronalnych jak i w regulacji poziomu wapnia poprzez oddziaływanie z kanałami wapniowymi typu N. Wyniki te interesujące z punktu poznawczego, Habilitantka uzupełniła oceną poziomu kinaz białkowych (GSK-3b, Cdk5).

Reasumując, cykl prac naukowych wchodzących w skład ocenianego osiągnięcia naukowego w postępowaniu habilitacyjnym dr Sylwii Kędrackiej-Krok oceniam wysoko. Dostarczyły one wielu oryginalnych oraz istotnych wyników, które znacząco zwiększają efektywność metodyczną prowadzenia badań proteomicznych mózgu, a także poszerzają wiedzę dotyczącą podłoża biologicznego schorzeń ośrodkowego układu nerwowego w tym depresji i schizofrenii oraz dostarczają istotnych informacji o nowych, potencjalnych białkowych punktach uchwytu dla leków stosowanych u pacjentów w ich terapii. Na podkreślenie zasługuje wysoki poziom warsztatu badawczego Habilitantki oparty o nowoczesne techniki proteomiczne, co pozwoliło na dogłębną analizę badanych zagadnień i uzyskanie wielu wartościowych wyników, w tym posiadających cechy odkryć naukowych.

4. Ocena działalności dydaktycznej i organizacyjnej

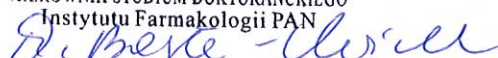
Dr Sylwia Kędracka-Krok ma duże osiągnięcia w dydaktyce oraz działalności organizacyjnej na rzecz środowiska naukowego. Habilitantka regularnie od roku 1996 prowadzi kursy dla studentów w tym kierunków Biotechnologii, Biochemii, Biofizyki czy Neurobiologii na Uniwersytecie Jagiellońskim w Krakowie jak np. „Biochemia Fizyczna”, „Neurobiologia”, „Neurochemia” czy „Spektrometria mas”. Średnia liczba godzin dydaktycznych wypracowywanych rocznie przez dr Kędracką-Krok po doktoracie czyli w latach 2005-2016 wynosi 280. Habilitantka jest promotorem pomocniczym trzech prac doktorskich, z których jednej obrona planowana jest w najbliższym czasie. Warto podkreślić, że tematyka wszystkich tych przewodów doktorskich tematycznie związana jest z profilem działalności

naukowej Habilitantki. Dr Kędracka-Krok była także promotorem w 16 zakończonych pracach magisterskich, 19 zakończonych pracach licencjackich oraz opiekunem 7 prac przejściowych. Habilitantka była także recenzentem wielu prac w tym jedenastu magisterskich, czterech licencjackich oraz trzech przejściowych. Duża aktywność dydaktyczna dr Kędrackiej-Krok obejmuje także realizację grantów dydaktycznych w tym kierownictwo projektu Rektorskiego Funduszu Rozwoju Dydaktyki „Ars Docendi” „Udoskonalenie metodyki nauczania proteomiki” (2016), czy wykonawstwo w projekcie „Nowe sposoby kształcenia w zakresie biochemii fizycznej i inżynierii białka” (2006-2007). Habilitantka była także przedstawicielem Wydziału Biochemii Biofizyki i Biotechnologii podczas przygotowywania i wykonywania międzywydziałowych projektów służących udoskoleniu infrastruktury dydaktycznej w latach 2008-2010 w ramach XIII Programu Operacyjnego Infrastruktura i Środowisko oraz finansowanych ze środków dotacji rozwojowej Małopolskiego Regionalnego Programu Operacyjnego. Wspomnieć należy, że bogatą aktywność dr Sylwii Kędrackiej-Krok uzupełnia Jej praca jako członka Komisji Wydziałowej do spraw opracowania kryteriów ocen nauczycieli akademickich, przedstawicielstwo pracowników niesamodzielnych w Radzie Wydziału Biochemii Biofizyki i Biotechnologii UJ oraz wykłady popularyzatorskie wygłoszone w latach 2010-2016.

Podsumowanie

Dr Sylwia Kędracka-Krok posiada bardzo wartościowy dorobek naukowy, który stanowi oryginalny i istotny wkład do nauki światowej w badaniach podłoża biologicznego chorób ośrodkowego układu nerwowego: depresji i schizofrenii oraz mechanizmów działania leków psychotropowych stosowanych w ich terapii. Wyniki uzyskane w pracach wchodzących w skład ocenianego osiągnięcia naukowego mają obecnie znaczenie głównie poznawcze, ale w przyszłości mogą zyskać również wartość kliniczną. Konsekwencja badawcza, spójność tematyczna oraz wysoka wartość merytoryczna prac opublikowanych przez dr Sylwię Kędracką-Krok, potwierdzona wartościami współczynników wpływu i liczbą cytowań, świadczy o Jej znaczącej pozycji w świecie naukowym. Tym samym stwierdzam, że wskazane przez dr Sylwię Kędracką-Krok osiągnięcie naukowe, Jej całkowity dorobek naukowy oraz działalność dydaktyczna oraz organizacyjna spełniają wymagania wymienione 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.

KIEROWNIK STUDIUM DOKTORANCKIEGO
Instytutu Farmakologii PAN


Prof. dr hab. Agnieszka Basta-Kaim

Kraków, 09.01.2017

Prof. dr hab. n med. Agnieszka Basta-Kaim