



Instytut Farmakologii  
Polskiej Akademii Nauk

Zakład Neurobiologii

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

## RECENZJA

### osiągnięcia naukowego oraz dorobku naukowego Pani dr Doroty Makarewicz w postępowaniu habilitacyjnym

Pani dr n. med. Dorota Makarewicz ukończyła studia na Wydziale Biologii Uniwersytetu Warszawskiego w 1997 roku i uzyskała tytuł magistra biologii na podstawie obronionej pracy p.t. „Osmotyczne prekondycjonowanie nasion słonecznika“, którą wykonała w Zakładzie Fizjologii i Biochemii Roślin. W tym samym roku została zatrudniona jako asystent w Pracowni Farmakoneurochemii Zakładu Neurochemii w Instytucie Medycyny Doświadczalnej i Klinicznej im. M. Mossakowskiego PAN w Warszawie, gdzie w 2004 roku wykonała pracę doktorską p.t. „Neuroprotektoryjne działanie dantrolenu w modelowej asfiksji okołoporodowej w mózgu noworodków szczura“ i uzyskała stopień doktora nauk medycznych, z wyróżnieniem. W kolejnych latach Pani dr Dorota Makarewicz kontynuowała pracę naukową w Zakładzie Neurochemii IMDiK PAN w Warszawie na stanowisku asystenta, a następnie, w latach 2006-2014, na stanowisku adiunkta. Aktualnie jest zatrudniona w swoim macierzystym Zakładzie jako specjalista badawczo-techniczny, a ponadto w latach 2013-2016 piastowała stanowisko zastępcy Dyrektora ds. Operacyjnych w Międzynarodowym Instytucie Biologii Molekularnej i Komórkowej w Warszawie.

Dorobek naukowy Pani dr Doroty Makarewicz, na który składa się 15 prac oryginalnych opublikowanych w anglojęzycznych czasopismach indeksowanych w bazie Web of Science, z których 5 stanowi cykl prac wchodzących w skład osiągnięcia naukowego, wskazuje na konsekwencję w realizacji badań dotyczących mechanizmów uszkodzenia mózgu spowodowanego niedokrwieniem oraz potencjalnej farmakoterapii w okołoporodowych stanach niedotlenieniowo-niedokrwieniowych, z wykorzystaniem modeli zwierzęcych oraz komórkowych. Należy podkreślić, że poprzez swoje badania habilitantka znacząco przyczyniła się do rozwoju wiodącego nurtu badawczego w Pracowni Farmakoneurochemii IMDiK PAN w Warszawie, jakim jest poszukiwanie skutecznych metod neuroprotekcji oraz badanie mechanizmów uszkodzenia mózgu spowodowanego niedokrwieniem. Ponadto dorobek habilitantki obejmuje współautorstwo w patencie krajowym „Sposób ochrony i leczenia tkanek mózgu przed skutkami niedotlenienia i niedokrwienia u ssaka” udzielonym przez Urząd Patentowy RP w 2012 roku oraz 45 komunikatów zjazdowych, z których 31 było prezentowanych na zjazdach międzynarodowych. Sumaryczny Impact Factor opublikowanych prac wynosi 31,853, liczba cytowań 139, a Indeks Hirscha według bazy Web of Science wynosi 8.

W skład osiągnięcia naukowego wchodzi pięć spójnych tematycznie prac naukowych opublikowanych w latach 2006-2015 w czasopiśmie naukowym o zasięgu międzynarodowym i znajdujących się w bazie Web of Science. Łączny współczynnik wpływu w/w cyklu publikacji wynosi 9,895, co nie jest wartością bardzo wysoką, biorąc pod uwagę staż pracy naukowej oraz dziedzinę nauki którą zajmuje się habilitantka. Z drugiej strony, prace te są cytowane przez innych autorów (zgodnie z bazą Web of Science łączna ilość cytowań prac wchodzących w skład osiągnięcia wynosi aktualnie 32), co świadczy o zainteresowaniu środowiska naukowego badaniami prowadzonymi przez dr Dorotę Makarewicz. Zgodnie z deklaracją habilitantki zawartą w autoreferacie była ona wiodącym autorem publikacji wchodzących w skład osiągnięcia na wszystkich etapach realizacji, co potwierdzają współautorzy prac w załączonych oświadczeniach.

Tematem osiągnięcia naukowego Pani dr Pani Doroty Makarewicz było zbadanie neuroprotekcynnego potencjału ligandów receptorów glutaminianergicznym w leczeniu i zapobieganiu skutkom niedotlenienia mózgu u noworodków szczura oraz ocena perspektyw zastosowania terapeutycznego badanych substancji. Analiza prac wchodzących w skład cyklu stanowiącego osiągnięcie naukowe pozwala na wyodrębnienie dwóch głównych nurtów badawczych. Pierwszy z nich dotyczył zbadania własności neuroprotekcynnych wybranych ligandów glutaminianergicznym receptorów metabotropowych (mGlu) z wykorzystaniem modelu asfiksji okołoporodowej u szczurów, natomiast drugi skupił się na alternatywnej strategii zapobiegania uszkodzeniom mózgu wywołanym przez niedotlenienie okołoporodowe, polegającej na indukcji tolerancji ischemicznej z wykorzystaniem antagonistów receptora NMDA.

Spośród agonistów ligandów receptorów mGlu do badań wybrano: nioselektywnego agonistę receptorów mGlu, substancję ABHxD-1, antagonistę receptora mGlu1, substancję EMQMCM, antagonistę receptora mGlu5, substancję MTEP oraz allosterycznego modulatora pozytywnego (PAM) – ADX47273 i negatywnego (NAM) – fenobam, receptora mGlu5. Eksperymenty przeprowadzono po podaniach dootrzewnowych i/lub dokomorowych badanych substancji, stosując różne schematy czasowe podania substancji po hipoksji-ischemii i stosując konsekwentnie te same kryteria oceny badanych zmian. Pozwoliło to nie tylko na ocenę własności neuroprotekcynnych badanych związków w przyjętym modelu doświadczalnym, ale również ich zdolności do penetracji bariery-krew-mózg czy znaczenia działań nieswoistych, np. związanych z wpływem na obniżenie temperatury ciała zwierząt. Spośród badanych związków działanie neuroprotekcynne w badanym układzie eksperymentalnym zaobserwowano w przypadku substancji ABHxD-1. Podzielałam wniosek autorki, iż działanie to jest prawdopodobnie związane z aktywacją receptorów grupy II mGlu i wśród tego typu substancji można poszukiwać potencjalnych leków o działaniu neuroprotekcynnym. Natomiast komponenta związana z aktywacją receptorów I grupy mGlu, która dotyczy związku ABHxD-1, jest nie tylko mało obiecująca jeśli chodzi o efekt terapeutyczny, ale przede wszystkim niesie za sobą ryzyko wystąpienia bardzo niebezpiecznych działań niepożądanych i z tego powodu rozważanie substancji ABHxD-1 jako leku neuroprotekcynnego w asfiksji okołoporodowej nie jest uzasadnione, co zostało jasno podkreślone w autoreferacie. Kolejne badania mające na celu ocenę neuroprotekcynnego działania ligandów receptorów mGlu w modelu asfiksji okołoporodowej wykazały brak efektu w przypadku zastosowania antagonisty receptora mGlu5, substancji MTEP (którą faktycznie należy zaliczyć do allosterycznych modulatorów negatywnych tego receptora), aczkolwiek związek ten był aktywny w

modelu odwracalnej ischemii przodomózgowia indukowanej obustronnym zaciśnięciem tętnic szyjnych u dorosłych myszokoczków, co potwierdza jego potencjał neuroprotektyny u dorosłych organizmów, ale nie u noworodków badanych w modelu asfiksji okołoporodowej, co było głównym celem badań habilitantki. Z kolei antagonistą receptora mGlu1, związek EMQMCM wykazywał działanie neuroprotektynne w modelu hipoksji-ischemii u noworodków, ale ze względu na niejednoznaczność mechanizmu odpowiedzialnego za ten efekt oraz dane wskazujące na podniesione ryzyko zaburzeń rozwojowych mózgu noworodków w wyniku działania EMQMCM substancja ta nie została oceniona jako obiecująca w dalszych badaniach nad jej ewentualnym zastosowaniem w asfiksji okołoporodowej. Ocenę tę w pełni podzielam. Brak neuroprotektynnego działania w badanym modelu doświadczalnym zaobserwowano ponadto po zastosowaniu zarówno PAM (ADX47273), jak i NAM (fenobam), receptora mGlu5, a w przypadku fenobamu w wyższych dawkach wykazano nawet działanie neurotoksyczne, co w zestawieniu z negatywnymi wynikami dotyczącymi opisywanego wcześniej związku MTEP sugeruje, iż receptor mGlu5 nie jest obiecującym celem działania terapeutycznego w przypadkach asfiksji okołoporodowej.

Autoreferat zawiera dokładny opis poparty rzeczową dyskusją wyżej opisanych wyników badań własnych. Tym niemniej kontrowersyjny wydaje się punkt pierwszy podsumowania analizowanych prac habilitantki, mówiący iż „uzyskane wyniki nie wskazują na potencjał neuroprotektyny agonistów GI mGluR w szczurzym modelu asfiksji okołoporodowej”. Wydaje się, że jest to wniosek zbyt daleko idący biorąc pod uwagę fakt, iż w przedstawionych pracach habilitantki nie badano żadnego selektywnego agonisty receptorów I grupy mGlu. Wykorzystano jedynie związek ADX47273 zaliczany do PAM, co nie jest synonimem agonisty oraz nieselektywnego agonistę tych receptorów, związek ABHxD-1, który wykazywał właśnie efekt pozytywny w analizowanym modelu doświadczalnym, zaś zaangażowanie poszczególnych podtypów receptorów mGlu odpowiedzialnych za to działanie nie zostało wyjaśnione eksperymentalnie w omawianej pracy (np. poprzez zastosowanie antagonistów poszczególnych podtypów receptora mGlu w celu zablokowania efektu ABHxD-1). Sugerowany związek obserwowanego efektu ABHxD-1 z aktywacją receptorów grupy II wynika z analizy danych literaturowych dotyczących tego zagadnienia, a nie bezpośrednio z analizowanej pracy.

Drugim podjętym przez habilitantkę zagadnieniem było zbadanie roli antagonistów NMDA w indukcji tolerancji na hipoksję-ischemię z wykorzystaniem modeli *in vivo* i *in vitro*. Należy podkreślić, że badania te miały charakter całkowicie nowatorski. Hipoteza, sugerująca nowy mechanizm neuroprotektynnego działania antagonistów receptorów NMDA na mózg, poprzez indukcję tolerancji na ischemię jest hipotezą nową, dotychczas nie badaną *in vivo*. Badania Pani dr Doroty Makarewicz wykazały, iż prekondycjonowanie komórek ziarnistych mózdzku przy użyciu substancji o działaniu antagonistycznym względem receptora NMDA (MK-801 i memantyna) 24 lub 48 godzin przed deprywacją tlenowo-glukozową wpłynęło korzystnie na przeżywalność inkubowanych komórek. W świetle badań własnych habilitantki ujętych w analizowanej pracy oraz w świetle aktualnej wiedzy, obserwowany efekt został zinterpretowany jako wpływ antagonistów NMDA na indukcję tolerancji na deprywację tlenowo-glukozową (będącą modelem *in vitro* patologii niedokrwiennej) oraz tolerancji na ekscytotoksyczność. W kolejnej fazie zaplanowano weryfikację hipotezy o wpływie antagonistów receptora NMDA na indukcję długotrwałej tolerancji hipoksyjno-ischemicznej w badaniach *in vivo* z wykorzystaniem 7-dniowych szczurów, u których

badane związki (MK-801 i memantyna) podano dootrzewnowo w kilku punktach czasowych przez hipoksją-ischemią, a następnie, 14 dni po tym zabiegu badano mózgi zwierząt pod kątem ubytku masy półkuli ischemicznej oraz wpływu na poziom apoptoz. Badania habilitantki wykazały, iż prekondukcjonowanie przy użyciu antagonistów receptora NMDA, indukuje w mózgu osesków szczone opóźnioną i długotrwałą tolerancję na ischemię. Ponadto prace na zbadaniem mechanizmu odpowiedzialnego za to działanie pozwoliły autorce na wskazanie potencjalnego wykorzystania badanych substancji w neonatologii wraz z trzeźwą oceną zagrożeń takich zastosowań.

Autoreferat zawierający omówienie prac wchodzących w skład osiągnięcia stanowi nie tylko streszczenie zawartych w nich wyników. Zawiera on ponadto rozległy, ale uzasadniony wstęp do omawianych w pracach zagadnień oraz dyskusję obejmującą ciekawe interpretacje i zwięzłe, rzeczowe podsumowania. Omówienie prac będących przedmiotem osiągnięcia naukowego świadczy o umiejętności krytycznej analizy wyników wraz z przedstawieniem jasnej oceny ewentualnej przydatności terapeutycznej badanych substancji oraz o swobodzie analizy własnych badań w kontekście danych literaturowych. Szkoda, że ta umiejętność nie została wykorzystana przy opracowaniu choćby jednej pracy przeglądowej lub monografii.

Wyniki badań własnych oraz szerzej pojęte zagadnienia związane z neuroprotekcją były natomiast tematem sześciu referatów naukowych w językach angielskim, polskim lub rosyjskim, prezentowanych przez habilitantkę na międzynarodowych bądź ogólnopolskich konferencjach naukowych. Ponadto prezentowała swoje wyniki w formie posteru bądź wystąpień ustnych na 14 krajowych i 31 międzynarodowych konferencjach naukowych

Biorąc pod uwagę przebieg pracy naukowej Doroty Makarewicz szczególną uwagę zwraca fakt dużego zaangażowania w pracę związaną z realizacją wielu różnorodnych projektów badawczych, w charakterze kierownika projektu, głównego wykonawcy lub wykonawcy oraz w skuteczne zdobywanie środków na realizację badań. Habilitantka dwukrotnie kierowała grantami naukowymi; pierwszy z nich (w latach 1999-2000) został sfinansowany przez Komitet Badań Naukowych, a drugi przez Ministerstwo Nauki i Szkolnictwa Wyższego (w latach 2010-2014). Ponadto uczestniczyła w realizacji ośmiu innych projektów naukowych o różnorodnej tematyce badawczej. Podjęła również wysiłek rozszerzenia swojej wiedzy i umiejętności w zakresie zarządzania projektami badawczymi oraz komercjalizacji wyników badań naukowych poprzez podjęcie a następnie ukończenie studiów podyplomowych w tym zakresie w Szkole Głównej Handlowej w Warszawie w roku 2012, a następnie w Akademii Leona Koźmińskiego w Warszawie w roku 2013. Ponadto w latach 2010-2014 była uczestnikiem licznych szkoleń i warsztatów z zakresu 7 Programu Ramowego oraz Programu Horizon 2020 organizowanych przez Krajowy Punkt Kontaktowy Programów Badawczych Unii Europejskiej.

Istotnym elementem kariery naukowej Pani dr Doroty Makarewicz były staże i stypendia naukowe w ośrodkach uniwersyteckich w Szwecji (Uniwersytet w Goeteborgu, trzykrotnie), w USA (Uniwersytet Michigan, Ann Arbor) oraz w Rosji (Instytut Badań Mózgu Rosyjskiej Akademii Nauk), podczas których habilitantka miała okazję zdobyć wiedzę i umiejętności pozwalające na istotne rozszerzenie warsztatu metodycznego.

Pani dr Dorota Makarewicz była kilkakrotnie nagradzana za działalność naukową. Uzyskała między innymi nagrodę dla młodych badaczy z Polski za osiągnięcie w dziedzinie neuropatologii/neurobiologii za rok 2004 przyznaną przez "The Henryk and Krystyna Wiśniewski

Foundation”, a także Stypendium Polskiego Towarzystwa Badań Układu Nerwowego i Fundacji Bankowej im. L. Kronenberga dla młodych neurobiologów w roku 1999. Ponadto była nagradzana przez dyrektora IMDiK PAN za wyróżnioną pracę doktorską (2004 rok) oraz współautorstwo wyróżnionej pracy oryginalnej opublikowanej w roku 2008. Czterokrotnie zdobyła również tzw. travel grant na pokrycie kosztów uczestnictwa w międzynarodowych konferencjach naukowych (wszystkie przed doktoratem), a podczas XVI Międzynarodowego Kongresu Polskiego Towarzystwa Farmakologicznego we Wrocławiu w roku 2007 uzyskała główną nagrodę za najlepsze doniesienie zjazdowe.

Poza działalnością stricte naukową Pani dr Dorota Makarewicz podejmowała również różne formy współpracy z firmami farmaceutycznymi, pozwalające na wykorzystanie wiedzy i kompetencji zdobytych w IMDiK PAN. W roku 2009, jako Pisarz medyczny w firmie MTZ Clinical Research zajmowała się przygotowaniem dokumentacji medycznej do badań klinicznych, a w latach 2012-2013 pracowała w firmie Adamed Sp. z o.o. na stanowisku Specjalisty ds. badań klinicznych, poszerzając tym samym swoje doświadczenie naukowe oraz umiejętności menadżerskie i organizacyjne.

Zdolności organizacyjne wykorzystała również jako członek komitetów organizacyjnych dwóch międzynarodowych konferencji naukowych: Heart of Europe – Zebrafish Meeting w roku 2014 oraz International Fishmed Conference on Zebrafish Research w roku 2016. W przypadku organizacji czterech innych konferencji naukowych pracowała jako wolontariusz lub osoba wspierająca komitety organizacyjne. Codziennym polem realizacji umiejętności organizacyjnych i menadżerskich była również praca w Międzynarodowym Instytucie Biologii Molekularnej i Komórkowej w Warszawie na stanowisku Pełnomocnika Dyrektora ds. Administracyjnych, a później Zastępcy Dyrektora ds. Operacyjnych. W ramach tej działalności pracowała m.in. nad utworzeniem statutu Sponsora Strategicznego z ramienia Międzynarodowego Instytutu Biologii Molekularnej i Komórkowej w Warszawie dla działań Centrum Bioedukacji (Biocen). Ponadto aktywnie działała w Stowarzyszeniu Neuropatologów Polskich, będąc członkiem Komisji Rewizyjnej w latach 2011-2014. Od 2015 roku jest również członkiem Zespołu ds. zapewnienia dobrostanu zwierząt wykorzystywanych do celów naukowych i edukacyjnych w Międzynarodowym Instytucie Biologii Molekularnej i Komórkowej w Warszawie.

Muszę natomiast odnotować brak aktywności dydaktycznej Pani dr Doroty Makarewicz. Nie była opiekunem naukowym studentów lub doktorantów. Nie prowadziła również zajęć dydaktycznych ze studentami. Należy jednak uwzględnić, iż habilitantka nie realizuje swojej pracy naukowej w jednostce uniwersyteckiej i nie jest nauczycielem akademickim, co ogranicza możliwości zaangażowania w pracę dydaktyczną. Mimo to kilkakrotnie była zapraszana do wygłoszenia odczytów i wykładów, co świadczy o umiejętności i chęci dzielenia się wiedzą.

Pracy naukowej dr Doroty Makarewicz towarzyszyła natomiast działalność polegająca na szeroko pojętej popularyzacji nauki. Świadczy o tym zaangażowanie w przygotowanie i realizację autorskiego programu edukacyjnego dla lekarzy w telewizji TVN MED pt. „Asfiksja okołoporodowa w klinice i laboratorium” oraz aktywność w grupie kreatywnej TVN MED zajmującej się opracowywaniem nowych formatów programów edukacyjnych dla lekarzy.

Biorąc pod uwagę wartość naukową badań prowadzonych przez Panią dr Dorotę Makarewicz, ze szczególnym uwzględnieniem prac wchodzących w skład osiągnięcia naukowego, Jej dorobek

naukowy i organizacyjny, aktywny udział w stażach i konferencjach naukowych, nagrody i wyróżnienia za pracę naukową oraz umiejętność pozyskiwania funduszy na realizację badań uważam, że Pani dr Dorota Makarewicz spełnia warunki określone w ustawie z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. nr 65, poz. 595 z późniejszymi zmianami) przy uwzględnieniu regulacji zawartych w rozporządzeniu Ministra Nauki i Szkolnictwa Wyższego z dnia 1 września 2011 r. w sprawie kryteriów oceny osiągnięć osoby ubiegającej się o nadanie stopnia doktora habilitowanego (Dz. U. nr 196, poz. 1165). Mam zatem zaszczyt przedstawić wniosek o dopuszczenie Pani dr Doroty Makarewicz do dalszych etapów przewodu habilitacyjnego.

Kraków 29.11.2016r.

dr hab. Agnieszka Patulska-Poniewińska