

Dr hab. prof. uczelni Bogusława Pietrzak  
Zakład Farmakodynamiki  
Wydziału Farmaceutycznego UM  
ul. Muszyńskiego 1, 90-151 Łódź

Łódź, 10.12. 2023 r.

### **OCENA**

osiągnięć naukowych oraz aktywności dydaktycznej i popularyzatorskiej  
**Pani dr n. biol. Marzeny Stefaniuk**  
będących podstawą do ubiegania się o nadanie stopnia doktora habilitowanego w dziedzinie  
nauk ścisłych i przyrodniczych w dyscyplinie nauki biologiczne  
pt. **Plastyczność mózgu w zaburzeniach związanych ze spożyciem alkoholu - od  
pojedynczych kolców dendrytycznych do sieci neuronów**  
w postępowaniu prowadzonym przez Radę Naukową Instytutu Biologii Doświadczalnej im.  
M. Nenckiego PAN w Warszawie

W związku powołaniem Uchwałą Rady Naukowej Instytutu Biologii Doświadczalnej im. M. Nenckiego PAN z dnia 19 października 2023 r. nr 132/RN/GE/2023 na recenzenta w postępowaniu o nadanie stopnia doktora habilitowanego dr n. biol. Marzenie Stefaniuk, w dziedzinie nauk ścisłych i przyrodniczych w dyscyplinie nauki biologiczne, wszczętym w dniu 14 czerwca 2023 r., przedstawiam ocenę cyklu prac stanowiących osiągnięcie naukowe oraz innych osiągnięć, jak również aktywności dydaktyczno-organizacyjnych dr n. biol. Marzeny Stefaniuk, adiunkta w Pracowni Neurobiologii, Instytutu Biologii Doświadczalnej im. M. Nenckiego PAN w Warszawie.

Niniejsza ocena została przygotowana na podstawie kompletu dokumentów dotyczących postępowania habilitacyjnego, przesłanych przez Instytut Biologii Doświadczalnej im. M. Nenckiego PAN w Warszawie.

## **Przebieg kariery naukowej Habilitantki**

Pani dr n. biol. Marzena Stefaniuk, w roku 2005 ukończyła studia na Wydziale Biologii Uniwersytetu Warszawskiego, uzyskując dyplom magistra biologii w zakresie immunologii na podstawie pracy magisterskiej pt. *Czynniki odpowiedzialne za utrzymanie homeostazy limfocytów T*, wykonanej pod kierunkiem Pani dr hab. Nadziei Dreli.

W tym samym, 2005 roku, podjęła studia doktoranckie w Pracowni Epileptogenezy, Instytutu Biologii Doświadczalnej im. M. Nenckiego PAN w Warszawie, które po pięciu latach zaowocowały uzyskaniem stopnia doktora nauk biologicznych w zakresie neurobiologii na podstawie rozprawy pt. *Identyfikacja Ttyh1 jako genu znacznika sekwencji ulegającej ekspresji (EST) AA899079 i poszukiwanie jego funkcji w mózgu*. Promotorem przewodu doktorskiego była Pani Prof. dr hab. Katarzyna Łukasiuk.

Po uzyskaniu stopnia doktora Pani Marzena Stefaniuk, przez kolejne dwa lata pracowała jako asystent zarządzania danymi z badań klinicznych w R&D Merck Sharp & Dohme w Warszawie, a następnie jako specjalista badań klinicznych w R&D Astra Zeneca Pharma Poland w Warszawie. Po tym okresie, w 2012 roku powróciła do Instytutu Biologii Doświadczalnej im. M. Nenckiego PAN, gdzie początkowo była zatrudniona jako specjalista badawczo-techniczny w Pracowni Neurobiologii, a w sierpniu 2022 roku awansowała na stanowisko adiunkta, na którym pozostaje do chwili obecnej.

W przebiegu kariery zawodowej Habilitantki należy podkreślić Jej mobilność naukową i szeroko zakrojoną współpracę z ośrodkami zagranicznymi, co bez wątpienia, miało znaczący wpływ na projektowanie i doskonalenie nowatorskiego warsztatu badawczego, który posłużył do zrealizowania istotnej części jej wiodącego projektu badawczego jak również innych osiągnięć.

Już u początku swojej naukowej kariery w 2007 r. odbyła miesięczny staż badawczy w Portugalii: Centro de Neurociências e Biologia Celular (CNC), Coimbra, gdzie nabyła umiejętności, niezbędne w realizacji Jej doktoratu. W kolejnym roku podczas trzymiesięcznego stażu badawczego w Rzymie w European Brain Research Institute Fondazione Rita Levi Montalcini, w ramach stypendium Włoskiego Rządu, opracowała protokół stymulacji *in vivo* hodowli komórkowych z użyciem kwasu kainowego i wdrożyła go do swojego warsztatu badawczego. Równolegle w okresie studiów doktoranckich realizowała; Grant promotorski Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego, którego kierownikiem była Prof. dr hab. Katarzyna Łukasiuk, promotor w przewodzie doktorskim.

Po uzyskaniu stopnia doktora miały miejsce kolejne wyjazdy naukowe, które wiązały się już ściśle z tematyką realizowaną w ramach wiodącego osiągnięcia naukowego, będącego przedmiotem oceny. W 2014 r. w ramach bilateralnej współpracy i realizacji zadań badawczych projektu HARMONIA finansowanego przez NCN; przebywała w Niemczech pracując nad mapowaniem połączeń ośrodków apetytywnych w mózgu. Podczas

trzytygodniowego pobytu Habilitantka stworzyła system ciśnieniowy do wprowadzania wektorów wirusowych do mózgu myszy. Następnie zaimplementowała tę technikę do śledzenia połączeń między jądrem centralnym ciała migdałowatego, a jądrem łukowatym, głównymi obszarami mózgu zaangażowanymi w mechanizm rozwoju uzależnienia od alkoholu.

W kolejnym 2015 roku w trakcie tygodniowego pobytu w Hiszpanii w ramach projektu; *Opracowanie techniki obrazowania całego mózgu szczura w mikroskopie opartym na arkuszu światła*, uczestniczyła w montażu niestandardowego zestawu mikroskopu opartego na arkuszu światła i obrazowała całe próbki mózgu szczura.

Jej wciąż rozwijany i doskonalony warsztat badawczy, umożliwia projektowanie i prowadzenie prac na wysokim poziomie naukowym, finansowanych przez Narodowe Centrum Nauki. Aktualnie Pani dr Marzena Stefaniuk jest kierownikiem grantu badawczego OPUS (2020-2024) pt; *Zrozumieć nawrót alkoholowy przez obrazowanie całego mózgu*.

Wcześniej w latach 2016-2021, już jako specjalista mikroskopii opartej na arkuszu światła, była współwykonawcą Grantu badawczego TEAM Fundacja na rzecz Nauki Polskiej, którego Kierownikiem był Prof. Leszek Kaczmarek. Natomiast w latach 2013-2016 uczestniczyła, jako wykonawca aż w trzech grantach badawczych, realizowanych również we współpracy z partnerami zagranicznymi.

Na podkreślenie zasługuje fakt, że już w okresie swoich studiów doktoranckich Habilitantka wygłaszała wykłady z zakresu neurobiologii na Konferencjach Międzynarodowych we Włoszech (2007) i w Grecji (2009). Natomiast po uzyskaniu stopnia doktora były to wykłady na zaproszenie, które prezentowała na Kongresach, Sympozjach czy Konferencjach krajowych i zagranicznych w Heidelberg w Niemczech oraz w Waszyngtonie na prestiżowym wydarzeniu jakim był 46th Annual Research Society on Alcohol Scientific Meeting, 24-28 czerwca 2023 r.

O znaczącej pozycji i uznaniu w świecie naukowym dr Marzeny Stefaniuk świadczy też fakt, że została zaproszona jako Recenzent grantu naukowego Fundacji the Geneva University Hospitals and Faculty of Medicine Research Foundation czy Redaktor Pomocniczy czasopisma *Acta Neurobiologiae Experimentalis*. Swoim doświadczeniem naukowym oraz ofertą współpracy może dzielić się również jako członkini towarzystwa naukowego; Society for Neuroscience.

W ramach aktywności aplikacyjnej Habilitantka była współautorem 2 patentów krajowych: *Urządzenie i zespół do unieruchamiania zwierzęcia, zastosowanie tego urządzenia i sposób unieruchamiania zwierzęcia*, przyznanego 15.06.2016 r. oraz *Pochodne 4,5-dihydro oksazol-2-ilo aminy do zastosowania w zapobieganiu lub leczeniu choroby alkoholowej*, przyznanego 8.03.2022 r.

**Ocena osiągnięć naukowych**, o którym mowa w art. 219 ust. 1, pkt. 2b Ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 2021 r. poz. 478 z późn. zm.). Na wiodące osiągnięcie naukowe dr Marzeny Stefaniuk składa się cykl powiązanych ze sobą tematycznie czterech publikacji oryginalnych oraz jednej przeglądowej, opublikowanych w okresie od 2014 do 2023 roku. Wszystkie prace są wieloautorskie, a Habilitantka w trzech spośród nich jest pierwszym autorem, w jednej współdzieli pierwsze autorstwo, w każdej jest autorem korespondencyjnym. Prezentowane artykuły zostały opublikowane w czasopismach indeksowanych przez JCR Web Of Science, a sumaryczny *Impact Factor* tych czasopism wg stanu na rok 2023, wynosi 39,496.

Z oświadczeń o współautorstwie publikacji wynika, że udział dr Marzeny Stefaniuk w pracach wspólnych, był dominujący. Wkład w planowanie, organizację pracy badawczej i przygotowanie manuskryptów wynosił nie mniej niż 75% w przypadku oryginalnych artykułów naukowych, a w przypadku artykułu przeglądowego był równy udziałowi pozostałych współautorów. Również udział Habilitantki w przeprowadzeniu eksperymentów opisanych w publikacjach był dominujący, nie mniejszy niż 50%, ponieważ większość eksperymentów wymagała jednoczesnego udziału co najmniej dwóch badaczy. Jej wkład obejmował:

- stworzenie lub współdzielał w stworzeniu koncepcji i opracowaniu planu badawczego,
- uzyskanie zgody na przeprowadzenie badań na zwierzętach,
- merytoryczny nadzór nad ich realizacją,
- przeprowadzenie większości eksperymentów na zwierzętach,
- pobieranie materiału biologicznego do dalszych badań,
- udział w obrazowaniu preparatów,
- formalna oraz krytyczna interpretacja i ocena uzyskanych wyników,
- przygotowanie koncepcji i zrealizowanie ich wizualizacji,
- współtworzenie manuskryptów ich korekta w odpowiedzi na uwagi recenzentów,
- korespondencja z redakcją i przygotowanie ostatecznej wersji manuskryptu.

Wszystkie prace wchodzące w skład cyklu habilitacyjnego są naukowo bardzo wartościowe, stanowią osiągnięcie wnoszące nową wiedzę do obszaru nauk ścisłych i przyrodniczych w zakresie neurobiologii, co zostało również potwierdzone przez recenzentów renomowanych czasopism o zasięgu międzynarodowym, w których te prace się ukazały, dając imponujący sumaryczny IF = 39,5. Osiągnięcie naukowe jest efektem podjęcia po uzyskaniu stopnia doktora intensywnej pracy badawczej, również w ramach współpracy z ośrodkami zagranicznymi oraz doskonalenie nowatorskiego warsztatu badawczego w tych ośrodkach, o czym już wcześniej wspomniano.

Dr Marzena Stefaniuk w swoich badaniach składających się na cykl habilitacyjny, skupiła się na różnych wymiarach plastyczności mózgu, rozumianej jako zdolność mózgu do zmian i reorganizacji, zarówno na poziomie strukturalnym jak i funkcjonalnym. Zmiany te, leżące u podstaw rozwoju mózgu, procesów uczenia się i tworzenia śladów pamięci, w niektórych sytuacjach mogą przybierać negatywny kierunek, tak jak w przypadku chorób neurodegeneracyjnych, neuropsychiatrycznych czy rozwoju uzależnienia od alkoholu. Znakomitym wprowadzeniem w podjętą tematykę badawczą jest praca przeglądowa rozpoczynająca cykl publikacji składających się na osiągnięcie, w której autorzy skupili się na roli jednego z czynników molekularnych, zaangażowanych głównie w strukturalną, ale też funkcjonalną plastyczność kolców dendrytycznych, jakim jest metaloproteinaza macierzy-9 (MMP-9). **(1 praca z cyklu)**

Z wcześniejszych badań wynika, że białko to jest również zaangażowane w zaburzenia związane ze spożywaniem alkoholu u ludzi, ponieważ u osób uzależnionych obserwowano jego zwiększoną ekspresję. Dlatego też Habilitantka w pierwszej kolejności skoncentrowała swoją uwagę na plastyczności strukturalnej mózgu w zaburzeniach związanych ze spożywaniem alkoholu na przykładzie ekspresji MMP-9 w jądrze środkowym ciała migdałowatego (CeA), strukturze mającej istotne znaczenie w rozwoju uzależnienia.

W realizacji celu tego etapu projektu posłużyła się systemem IntelliCage. Wybór tego modelu był bardzo trafny, ponieważ badania z jego wykorzystaniem umożliwiają stałe, długotrwałe monitorowanie cech behawioralnych gryzoni żyjących w grupie społecznej, a związanych z rozwojem uzależnienia. Pozwala tym samym naśladować różne aspekty ludzkich zachowań, spełniających zdefiniowane kryteria uzależnienia.

Aby zbadać czy i w jaki sposób plastyczność strukturalna zależna od MMP-9, przejawia się w jądrze środkowym ciała migdałowatego, wykorzystano myszy pozbawione genu kodującego MMP-9 (MMP-9 KO) oraz ich rodzeństwo typu dzikiego (WT). Wyniki tego badania pokazały, że myszy MMP-9 KO piły tyle samo alkoholu, co zwierzęta WT, ale były upośledzone w jego poszukiwaniu, podczas testu motywacyjnego oraz w okresie odstawienia. Co więcej, upośledzone poszukiwanie alkoholu związane było ze zmianami strukturalnymi kolców dendrytycznych w CeA, które były znacznie mniej wyrażone w porównaniu do obserwowanych u myszy WT. Dodatkowo, rolę plastyczności strukturalnej w CeA, związanej z MMP-9, Habilitantka potwierdziła poprzez wprowadzenie tej metaloproteinazy do CeA u zwierząt MMP-9 KO, co istotnie zwiększyło motywację do picia alkoholu. Wyniki te korelują też z obserwacjami współpracowników z ośrodka klinicznego, którzy stwierdzili, że w populacji pacjentów z zaburzeniami używania alkoholu, polimorfizm genu MMP-9 wiąże się ze zwiększoną motywacją do picia alkoholu. Sugeruje to, że plastyczność strukturalna zależna od MMP-9, może mieć również kluczowe znaczenie w zaburzeniach związanych ze spożywaniem alkoholu u ludzi. Uzyskane przez Habilitantkę

wyniki wskazują na oryginalny mechanizm głodu alkoholowego, który obejmuje plastyczność strukturalną w mózgu, zależną od MMP-9. **(2 praca z cyklu)**

Silny głód alkoholowy, będący jedną z cech uzależnienia, stanowi najpoważniejszy problem w utrzymaniu abstynencji przez osoby uzależnione, które podejmują próby wyjścia z nałogu. Dlatego też wyniki uzyskane na tym etapie projektu stanowią niezwykle istotny wkład w poznanie molekularnego mechanizmu głodu alkoholowego. Znaczenie tego odkrycia zostało potwierdzone i podkreślone w specjalnie dedykowanym komentarzu redaktorskim zamieszczonym w *Biological Psychiatry*, gdzie Habilitantka opublikowała powyższe wyniki. Artykuł ten został również wyróżniony Nagrodą Konorskiego, przyznawaną przez Komitet Neurobiologii Polskiej Akademii Nauk za oryginalną publikację z dziedziny neurobiologii, powstałą w decydującej części w Polsce i opublikowaną w jednym z wiodących czasopism o międzynarodowym zasięgu.

Te znaczące wyniki jakie uzyskała wraz z zespołem, postawiły przed Habilitantką kolejne pytanie czy w innych strukturach mózgu, występuje podobne zjawisko jakie zaobserwowano w jądrze środkowym ciała migdałowatego.

Aby rozszerzyć badania nad plastycznością mózgu poza jego pojedynczą strukturę, Pani dr Marzena Stefaniuk swoje zainteresowania naukowe skoncentrowała na optymalizacji protokołów optycznego oczyszczania tkanek i połączeniu ich z obrazowaniem za pomocą mikroskopu opartego na arkuszu światła. Były to nowo wprowadzone techniki, jeszcze nie w pełni zoptymalizowane, mające szereg ograniczeń, jak np. złożoność procedur oczyszczania tkanek. Prace nad optymalizacją przyjętych protokołów optycznego oczyszczania tkanek zaowocowały kolejnym sukcesem Habilitantki, jakim było oczyszczenie po raz pierwszy całego mózgu szczura i zobrazowanie go przy użyciu dwóch niezależnych mikroskopów. Jeden z nich został skonstruowany we współpracy z ośrodkiem zagranicznym, drugi zestaw skonstruowano od podstaw w macierzystym Instytucie Nenckiego. Był to pierwszy w Polsce mikroskop oparty na arkuszu światła, dedykowany do obrazowania mózgu gryzoni. Podczas projektowania układu, aby uzyskać obraz nawet drobnych szczegółów anatomicznych, nienaruszonego mózgu szczura, skupiono się na optymalizacji unieruchomienia próbki i rozdzielczości obrazowania.

Wyniki tych badań zostały opublikowane w *Scientific Reports* **(3 praca z cyklu)** i również bardzo dobrze przyjęte w środowisku naukowym, na co wskazuje wysoka liczba cytowań. Położyły też podwaliny pod kolejny projekt, mający na celu dalszą optymalizację innych metod optycznego oczyszczania tkanek w połączeniu z immunohistochemią, pozwalającą uzyskać jeszcze bardziej wydajne oczyszczenie i umożliwić wykrycie antygenów w tkance. Rozległa wiedza i zdobyte wcześniej doświadczenie pozwoliły na zaprojektowanie protokołu optycznego oczyszczania tkanek mózgu dorosłych gryzoni w celu

wykrycia istotnego markera plastyczności, jakim jest c-Fos i wykonania obrazowania za pomocą mikroskopu opartego na arkuszu światła. **(4 praca z cyklu)**

c-Fos jest czynnikiem transkrypcyjnym, szybko i przejściowo indukowanym przez różne szlaki przekazywania sygnału sprzężone z receptorami. Jego ekspresja jest wykorzystywana do wykrywania aktywacji neuronów, która pośredniczy w długotrwałym wzmocnieniu synaps pobudzających, co ma również znaczenie dla generowania wyuczonych zachowań związanych z rozwojem uzależnienia. Ponadto ekspresja MMP-9 jest także regulowana między innymi przez c-Fos.

Aby zidentyfikować wszystkie struktury reagujące na alkohol, wykorzystano ekspresję c-Fos jako wskaźnik aktywacji neuronów związanych z plastycznością. Wiadomo, że wznowienie poszukiwania alkoholu w wyniku silnego głodu, indukuje ekspresję c-Fos w różnych regionach mózgu, ale brakowało globalnego obrazu ekspresji c-Fos w ponownej ekspozycji na alkohol.

Stąd celem kolejnego projektu było spojrzenie na plastyczność w tym aspekcie z perspektywy całego mózgu z rozdzielczością komórkową. Do badań behawioralnych ponownie wykorzystano system treningowy IntelliCage, stosując inne nowatorskie podejście eksperymentalne, które odzwierciedlałoby upijanie się u ludzi.

Wcześniej w żadnych badaniach nie dostosowano tego schematu używania alkoholu do klatki IntelliCage. Poprzednie protokoły opierały się na treningu zwierząt żyjących indywidualnie i pomijały ważny aspekt społeczny, leżący u podstaw rozwoju uzależnienia od alkoholu. Habilitantka wraz z zespołem, z powodzeniem wdrożyła do IntelliCage po raz pierwszy zwierzęcy model upijania się, tj. protokół picia w ciemności (ang. drinking in the dark, DID). W przeciwieństwie do standardowego protokołu swobodnego, długoterminowego dostępu, w tym schemacie zwierzęta miały dostęp do 20% etanolu przez ograniczony czas, dwu godzin w ciągu dnia. Następnie zupełnie odstawiano alkohol, a po 9 dniach wprowadzano go ponownie i dwie godziny później pobierano tkankę mózgową w celu wykonania obrazowania za pomocą już wcześniej używanego nowatorskiego zestawu mikroskopów.

Uzyskano w ten sposób listę struktur mózgowych aktywnych w przypadku ponownej ekspozycji na alkohol w porównaniu ze zwierzętami mającymi stały dostęp do alkoholu. Na liście tej, oprócz struktur o ustalonej roli w patogenezie uzależnienia, takich jak jądro centralne ciała migdałowatego, jądro łożyskowe prążka krańcowego lub jądro Edingera-Westphala, znalazło się również jądro przykomorowe śródmózgowia, które nie było wcześniej powiązane z uzależnieniem od alkoholu.

Następnie pełną listę struktur pogrupowano w moduły obejmujące struktury wykazujące podobny poziom ekspresji c-Fos (engramy). Mózgi zwierząt narażonych

ponownie na działanie alkoholu, po jego wcześniejszym odstawieniu, cechowały się dramatyczną wręcz przebudową obwodów neuronalnych.

Przedstawiono też indeks engramu dla określonych struktur, pozwalający uszeregować przypuszczalne zespoły komórek engramu jako potencjalnych kandydatów do przyszłej interwencji terapeutycznej. Obszary o wysokim indeksie były zlokalizowane głównie w śródmózgowiu i wskazywały na mezolimbiczny układ dopaminergiczny w behawioralnym działaniu etanolu **(5 praca z cyklu)**.

Wyniki te pozwalają wnioskować, że nawet okazjonalne picie alkoholu prowadzi do zwiększonej plastyczności mózgu i znaczącej rearanżacji obwodów neuronalnych, objawiającej się zaburzeniem funkcjonalnych sieci neuronów.

Zidentyfikowano struktury przypuszczalnie kluczowe w przejściu od okazjonalnego picia do uzależnienia, co może mieć potencjał terapeutyczny, oparty na technikach celowanej stymulacji mózgu.

Powyższe wyniki również odbiły się echem w środowisku naukowym i zostały wybrane do zaprezentowania w ramach sesji naukowej poświęconej nowatorskim podejściom do badania nadużywania alkoholu i funkcjonalnej łączności sieci mózgowych u ludzi i zwierząt, na spotkaniu Research Society on Alcohol w Stanach Zjednoczonych.

**Podsumowując** przeanalizowane prace składające się na szczególne osiągnięcie naukowe należy podkreślić, że Habilitantka podjęła się bardzo trudnego zadania, które należy postrzegać jako istotny element w poszukiwaniu nowych strategii terapii zaburzeń związanych ze spożywaniem alkoholu, będących złożoną chorobą, na którą wpływa wiele różnych czynników. Powtarzające się, niekontrolowane spożywanie alkoholu powoduje zmiany w mózgu utrzymujące się długo po bezpośrednim działaniu alkoholu, tj. odurzeniu, któremu zwykle towarzyszy uczucie przyjemności lub euforii. Te długotrwałe zmiany, wynikające ze strukturalnej oraz funkcjonalnej plastyczności mózgu są w istotnym stopniu odpowiedzialne za występowanie negatywnych efektów odstawienia, głodu alkoholowego czy wręcz zmian osobowości.

Obrazowanie całego mózgu, czego dokonała Habilitantka, pozwala na obserwowanie tych zmian w wielu jego obszarach związanych z podejmowaniem decyzji, uczeniem się i pamięcią oraz kontrolą zachowania. W zaburzeniach związanych ze spożywaniem alkoholu, „przejmuje” on fizjologiczne szlaki uczenia się, tworząc patologiczne pętle prowadzące do rozwoju uzależnienia i utrzymując jego konsekwencje przez całe życie.

Opisane wyniki potwierdzają, że istotne zmiany plastyczności obserwowane w jednej strukturze powinny być również postrzegane z globalnego punktu widzenia. Profilowanie w ten sposób całego mózgu, którego Habilitantka w swoich badaniach dokonała, dostarcza wiele bardzo potrzebnych informacji nie tylko o wszystkich zaangażowanych strukturach, ale



przede wszystkim o ich wzajemnych połączeniach funkcjonalnych. Zmiany w sile synaptycznej przejawiające się zarówno funkcjonalną jak i strukturalną plastycnością, są ważną cechą leżącą u podstaw uczenia się i tworzenia pamięci, ściśle powiązanych z rozwojem uzależnienia, pozwalają stworzyć mapy połączeń i pogrupować w engramy cechujące się zblizoną siłą synaptyczną. Zidentyfikowanie struktur kluczowych w przejściu od okazjonalnego picia do uzależnienia, może mieć potencjał terapeutyczny.

W mojej ocenie do najbardziej istotnych nowatorskich elementów wiodącego osiągnięcia Habilitacyjnego należy:

- Wskazanie i potwierdzenie roli metaloproteiny macierzy-9 (MMP-9) jako istotnego czynnika molekularnego, zaangażowanego głównie w strukturalną, ale też i funkcjonalną plastycność kolców dendrytycznych w mózgu myszy.
- Zbadanie plastycności strukturalnej mózgu w zaburzeniach związanych ze spożywaniem alkoholu na przykładzie ekspresji MMP-9 w jądrze środkowym ciała migdałowatego, strukturze mającej istotne znaczenie w rozwoju uzależnienia.
- Opracowanie protokołów wykorzystania systemu IntelliCage w badaniach behawioralnych w celu stałego i długotrwałego monitorowania cech behawioralnych związanych z rozwojem uzależnienia, naśladujących różne aspekty ludzkich zachowań, spełniających zdefiniowane kryteria uzależnienia oraz odzwierciedlające upijanie się, picie w ciemności (DID).
- Wskazanie oryginalnego mechanizmu głodu alkoholowego, który obejmuje plastycność strukturalną w mózgu, zależną od MMP-9 oraz wykazanie, że może mieć również kluczowe znaczenie w zaburzeniach związanych ze spożywaniem alkoholu u ludzi.
- Rozszerzenie badań nad plastycnością mózgu poza jego pojedynczą strukturę, poprzez optymalizację protokołów optycznego oczyszczania tkanek i połączenie ich z obrazowaniem za pomocą mikroskopu opartego na arkuszu światła
- Oczyszczenie po raz pierwszy całego mózgu szczura i zobrazowanie go przy użyciu dwóch niezależnych mikroskopów; skonstruowanego we współpracy z ośrodkiem zagranicznym oraz drugiego zestawu zaprojektowanego i skonstruowanego ze współudziałem Habilitantki w Instytucie Nenckiego; pierwszego w Polsce mikroskopu opartego na arkuszu światła, dedykowanego do obrazowania mózgu gryzoni.
- Optymalizacja innych metod optycznego oczyszczania tkanek w połączeniu z immunohistochemią, pozwalająca uzyskać jeszcze bardziej wydajne oczyszczanie i wykrycie istotnego markera plastycności; c-Fos.

- Wykorzystanie ekspresji c-Fos jako wskaźnika aktywacji neuronów związanych z plastycznością w różnych regionach mózgu, dającego globalny obraz tej aktywacji w różnych schematach ekspozycji na alkohol.
- Stworzenie pełnej listy struktur mózgowych aktywnych w przypadku ponownej ekspozycji na alkohol, poszerzonej również o takie, których wcześniej nie wiązano z rozwojem uzależnienia.
- Przedstawienie engramów obejmujących struktury wykazujące podobny poziom ekspresji c-Fos oraz ich indeksy pozwalające uszeregować zespoły komórek engramu według ich siły synaptycznej, jako potencjalnych kandydatów do przyszłej interwencji terapeutycznej.
- Zidentyfikowanie struktur przypuszczalnie kluczowych w przejściu od okazjonalnego picia do uzależnienia, co może mieć potencjał terapeutyczny, oparty na technikach celowanej stymulacji mózgu.

Habilitantka na zakończenie w przedstawionego Autoreferatu nakreśliła kilka istotnych pytań, które również nasuwają się czytelnikowi i wskazują na bardzo dojrzałe podejście do uzyskanych wyników oraz dalszą potrzebę badań; ze wskazaniem ich kierunku.

- Czy plastyczność wywołana alkoholem może być w pewnym stopniu odwrócona?
- Czy identyfikacja engramów może być korzystna, a modyfikacja sieci neuronalnej może mieć istotny potencjał terapeutyczny?

**Całościowy dorobek naukowy Habilitantki** podany za: Web of Science i Author Citation Report (na dzień 14 czerwca 2023 r.) obejmuje 19 publikacji, w tym również wchodzących w skład cyklu odzwierciedla sumaryczny Impact Factor, który wynosi 86,488. Liczba cytowań wynosi 399, a bez autocytowań to 384. H-indeks (według Web of Science) to 9. Natomiast suma pkt MNiSW (na dzień 14 czerwca 2023 r., z bazy danych Most Wiedzy) = 2020.

Większość prac poza cyklem habilitacyjnym została zrealizowana przez dr Marzenę Stefaniuk we współpracy i wskazuje też na inne osiągnięcia w obszarze neurobiologii, szczególnie w zakresie poszerzania i udoskonalania metod badawczych. Jej liczne wyjazdy naukowe, również na zaproszenie, do wiodących zagranicznych ośrodków badawczych owocowały kolejnymi publikacjami, których wartość naukową potwierdza fakt, że ukazywały się one w renomowanych czasopismach o zasięgu międzynarodowym i wysokich współczynnikach oddziaływania.

Na podkreślenie zasługuje fakt, że dr Marzena Stefaniuk wciąż rozwijany warsztat badawczy implementuje do innych modeli eksperymentalnych, szczególnie w zakresie chorób neurodegeneracyjnych czy neuropsychiatrycznych; epilepsji, schizofrenii, zespołu stresu pourazowego, zaburzeń uczenia się czy uzależnień innych niż alkoholowe. Nie można

też pominąć wagi współpracy z ośrodkami klinicznymi, która pozwala na aplikacyjne ukierunkowanie prowadzonych badań eksperymentalnych.

### **Aktywność dydaktyczna, organizacyjna oraz popularyzująca naukę**

Pani dr Marzena Stefaniuk pomimo, że jest naukowcem zatrudnionym w Instytucie Biologii Doświadczalnej, gdzie nie ma obowiązku dydaktycznego, zapala swoją pasją naukową studentów Warszawskich uczelni. Wyrazem tego jest promotorstwo pracy magisterskiej zrealizowanej na Wydziale Biologii, Uniwersytetu Warszawskiego przez Dianę Legutko pt. *Porównanie technik optycznego oczyszczania tkanek w kontekście stworzenia funkcjonalnych map mózgu szczurzego* oraz drugiej będącej w toku realizacji przez Magdalenę Sobień w Szkole Głównej Gospodarstwa Wiejskiego pt. *Mapowanie mózgu w uczeniu apetytywnym*.

Ponadto Habilitantka jest zaangażowana w działalność edukacyjną z zakresu neurobiologii, szczególnie w aspekcie mikroskopowych technik obrazowania; prowadząc wykłady, seminaria oraz ćwiczenia dla studentów Wydziału Biologii Uniwersytetu Warszawskiego. Jej tematyka badawcza cieszy się zainteresowaniem i skupia młodych adeptów nauki poprzez pracę w Studenckich Kołach Naukowych Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego przy Klinice Neurologii Dziecięcej oraz Katedrze i Klinice Psychiatrycznej, których jest opiekunem.

Była też Promotorem pomocniczym w przewodzie doktorskim Dr Behnam Vafadari zrealizowanej w (2017) w Instytucie Biologii Doświadczalnej im. M. Nenckiego, pt. *Role of MMP-9 in schizophrenia-related behaviors in mice* oraz drugiej będącej w toku realizacji przez Mgr Klaudię Nowicką również w rodzimej jednostce pt. *Rozkład białka c-Fos w całym mózgu podczas uczenia*.

Działalność popularyzującą naukę prowadzi głównie w ramach Stałego Wolontariatu w Fundacji im. Marcelego Nenckiego. Zrealizowała projekt Popularyzacja nauki: *Od nauki do sztuki. Mikroskopijny Świat*, uwieńczony konkursem fotograficznym dla Doktorantów i Młodych Naukowców. Organizuje warsztaty na temat optycznego oczyszczania i obrazowania tkanek za pomocą mikroskopu świetlnego. Jest współautorem tłumaczenia publikacji Japońskiego Towarzystwa Immunologicznego wspieranego przez Europejską Federację Towarzystw Immunologicznych; *Twój niesamowity układ odpornościowy. Jak chroni twoje ciało*.

Zainteresowanie tematyką badawczą dr Marzeny Stefaniuk, potwierdzają liczne zaproszenia na wykłady popularnonaukowe w ramach Festiwalu nauki, Tygodnia mózgu, spotkań Polskiego Towarzystwa Etologicznego, przez Fundację Wspierania Nauk Biologicznych czy innych programów finansowanych również przez władze samorządowe. W ramach działalności popularyzującej naukę, znajduje się również oferta dla najmłodszych

odbiorców; dzieci i młodzieży w ramach spotkań Krajowego Funduszu na rzecz Dzieci, lekcji festiwalowych dla najmłodszych podczas Festiwalu nauki czy też bezpośrednich spotkań w placówkach edukacyjnych. Panią Doktor jako „Animalistę” można też było usłyszeć w audycjach radiowych związanych z tematyką prowadzonych badań.

W ramach działalności organizacyjnej na rzecz społeczności naukowej Instytutu Biologii Doświadczalnej im. M. Nenckiego PAN, od 2023 r. reprezentuje adiunktów w Radzie Naukowej Instytutu Nenckiego, pełniąc też rolę zastępcy Sekretarza, a od 2015 r. jest członkiem Zespołu ds. Dobrostan Zwierząt powołanym przy Instytucie.

Jej szeroko zakrojona aktywność naukowa i popularyzatorska jest doceniana i honorowana przez ośrodki zagraniczne. Na udział w kursach i konferencjach dr Marzena Stefaniuk otrzymała trzy granty podróżne, ufundowane przez: the European Molecular Biology Organization (EMBO), the European Foundation for Alcohol Research (ERAB) oraz the International Brain Research Organization (IBRO).

### **Podsumowanie i wniosek**

Pani dr n. biol. Marzena Stefaniuk jest dojrzałym pracownikiem naukowym, posiada pełne umiejętności do prowadzenia samodzielnej pracy naukowo-badawczej oraz nawiązywania współpracy, co odzwierciedla Jej duży dorobek naukowy.

Jednorodny cykl publikacji, przedstawiony jako wiodące osiągnięcie naukowe, jest dziełem, które ze względu na spójność, kompleksowość, nowatorski charakter, bardzo istotny wkład w rozwój dyscypliny nauki biologiczne oraz potencjał aplikacyjny w tak ważnym temacie jak poszukiwanie nowych strategii terapii uzależnień, spełnia wymogi określone przez ustawę. Habilitantka wykazuje także istotną aktywność naukową, realizując we współpracy z ośrodkami naukowymi oraz akademickimi w Polsce i za granicą, inne kierunki badań, z których wyłaniają się inne dodatkowe osiągnięcia poza wiodącym. Na uwagę zasługuje też aktywność dydaktyczna, organizacyjna i popularyzującą naukę Habilitantki.

W związku z powyższym, wyrażam opinię, że Pani dr n. biol. Marzena Stefaniuk spełnia wymogi określone w art. 219 ust. 1 pkt 2 i 3 Ustawy z dnia 20 lipca 2018 r., dotyczące osoby ubiegającej się o nadanie stopnia doktora habilitowanego i w pełni zasługuje na jego uzyskanie. Tym samym wnoszę do Rady Naukowej Instytutu Biologii Doświadczalnej im. M. Nenckiego PAN w Warszawie o dopuszczenie Kandydatki, do dalszych etapów postępowania habilitacyjnego w dziedzinie nauk ścisłych i przyrodniczych w dyscyplinie nauki biologiczne.