



**Instytut Farmakologii
im. Jerzego Maja
Polskiej Akademii Nauk**

Zakład Neuropsychofarmakologii

Prof. dr hab. n. med. Jadwiga Wardas

Kraków, dnia 22.08.2022 r.

OCENA ROZPRAWY DOKTORSKIEJ

Mgr Sylwii Żulińskiej

z Zakładu Komórkowej Transdukcji Sygnału, Instytutu Medycyny Doświadczalnej i Klinicznej im.
Miroslawa Mossakowskiego PAN, Warszawa

z tytułu

„Analiza ekspresji genów białek regulujących funkcję i dynamikę mitochondriów w doświadczalnych modelach choroby Alzheimera”

Promotor: prof. dr hab. n. med. Joanna B. Strosznajder

Choroba Alzheimera (chA), jest rozwijającym się stopniowo schorzeniem neurodegeneracyjnym, prowadzącym od problemów z koncentracją, przez niewielkie zaniki pamięci do rozwoju zaburzeń poznawczych, zdolności uczenia i otępienia. Typowymi zjawiskami neuropatologicznymi w chA jest odkładanie się w przestrzeni zewnątrzkomórkowej mózgu, szczególnie w hipokampie, korze mózgowej złogów β amyloidu w formie blaszek starczych i powstawanie splątków neurofibrylarnych oraz nici neutropilowych, w wyniku nadmiernej fosforylacji białka tau. Dane epidemiologiczne wskazują, że chA dotyka około 1-2% populacji osób powyżej 65 roku życia. Przypuszcza się, że w Polsce około 350 tysięcy osób choruje na chA ale ze względu na fakt starzejącego się społeczeństwa, sugeruje się, że liczba osób z tą chorobą może się potroić do 2050 roku. ChA występuje w dwóch postaciach jako forma rodzinna o wczesnym początku obserwowana u ok 2-10% wszystkich przypadków (z mutacjami w genach białka prekursorowego amyloidu β (APP), preseniliny 1 i 2) oraz najbardziej powszechna postać (u ok. 90% wszystkich chorych), sporadyczna chA o późnym początku. Pomimo bardzo intensywnych badań przyczyny sporadycznej formy tej choroby pozostają niewyjaśnione, chociaż zidentyfikowano udział licznych czynników genetycznych i środowiskowych.

Przedłożona mi do recenzji rozprawa doktorska mgr Sylwii Żulińskiej (*nazwisko panięskie Wójtowicz*) jest obszernym opracowaniem o tradycyjnej formie, zawiera ona 169 stron, 7 Rycin (schematy), 14 Wykresów oraz 1 tabelę.

Praca została podzielona na kilka głównych, typowych rozdziałów: Wstęp, Cele pracy, Materiały i Metody, Wyniki, Dyskusja, Podsumowanie, Wnioski, Streszczenie w języku polskim i angielskim oraz Piśmiennictwo, zawierające ogromną ilość, bo aż 365 pozycji. Poza spisem treści i obszerną listą skrótów na początku rozprawy znajdują się również: Wykazy rycin, wykresów i tabel a także „Innowacyjność rozprawy” (str. 145-146), z wypunktowaniem przez autorkę najważniejszych, nowych wyników i osiągnięć tej pracy.

Na początku pracy znajduje się także informacja o publikacjach, w których zawarta jest „większość” przedstawionych w tej pracy wyników a także źródła finansowania. Trzy z tych prac zostały opublikowane w czasopiśmie o międzynarodowym zasięgu (*Biochim Biophys Acta Mol Cell Res 2018*, IF₂₀₂₁=5,011; *Mol Neurobiol 2020* (IF₂₀₂₁=5,682) oraz *Neurochem Res 2020* (IF₂₀₂₁=4,414), w jednej z nich doktorantka jest pierwszym autorem (pod nazwiskiem Wójtowicz S.). Ostatnia, czwarta praca jest obecnie w recenzjach (Żulińska S i wsp., *Neuromol Med 2022*, IF₂₀₂₁=4,103). Sumaryczny, imponujący Impact Factor wszystkich wymienionych powyżej 4 prac, wg danych z 2021 r. wynosi 19,21.



Warto dodać, że badania, których wyniki są podstawą niniejszej rozprawy zostały wykonane w ramach 3 projektów grantowych finansowanych przez Narodowe Centrum Nauki (Opus 5, Opus 8 oraz Preludium 18) a realizowanych przez doktorantkę pod kierunkiem prof. J.B. Strosznajder. Co warto podkreślić, kierownikiem grantu Preludium 18 uzyskanym w 2019 r. (w realizacji), jest mgr Sylwia Żulińska, co świadczy także o jej umiejętności zdobywania funduszy, zaangażowaniu w prowadzone badania i dojrzałości naukowej.

W obszernym „Wstępie” liczącym 32 strony (str 29-61) Autorka wprowadza czytelnika w istotę problemu, podjętego w pracy, zaczynając ten rozdział od charakterystyki choroby Alzheimerera. Doktorantka przedstawia m.in. epidemiologię, klasyfikację oraz etiologię tej choroby. Obszerne podrozdziały dotyczą patofizjologii chA, w których Doktorantka skrupulatnie i wyczerpująco analizuje aktualne hipotezy dotyczące mechanizmów, leżących u podstaw tej choroby w tym: „Hipotezę metaboliczną” (zaburzenia metabolizmu glukozy), „Hipotezę kaskady amyloidu”, opisującą rolę peptydów A β w rozwoju chA, „Hipotezę mitochondrialną” z opisem zaburzeń funkcji mitochondriów oraz funkcji kompleksów oddechowych w chA, rolę stresu oksydacyjnego w dysfunkcji mitochondriów i na koniec zaburzenia dynamiki mitochondriów oraz biogenezę mitochondrialną w chorobie Alzheimerera.

Bardzo dobrym pomysłem jest umieszczenie 6 schematów (Ryciny 1-6) ułatwiających zapoznanie się i zrozumienie skomplikowanych mechanizmów, takich jak np. metabolizm białka APP na szlaku amyloidogennym i nieamyloidogennym, dynamika mitochondriów z zaznaczeniem białek biorących udział w procesach fuzji (Mfn1/2, Opa1) i podziału (Drp1, Fis1) mitochondriów czy też hipotezy kaskady amyloidowej i kaskady mitochondrialnej w patogenezie chA.

Pytanie ogólne do wstępu:

- jakie czynniki środowiskowe są w świetle obecnej wiedzy uważane za ważne w rozwoju choroby? Poza wspomnianymi zaburzeniami metabolizmu glukozy i cukrzycą (chA nazywana jest czasem „cukrzycą typu 3”) oraz oczywiście wiekiem? Czy np. dieta, w tym obfitująca w tłuszcze trans, odpowiednia długość snu albo urazy głowy i inne czynniki mogą zwiększać ryzyko chA? Czy wiadomo coś o wpływie np. wirusów, lub długotrwałych zmian po Covid-19 na rozwój chA?

Mam też uwagę dotyczącą dużej, niestety, liczby błędów stylistycznych, literowych, interpunkcyjnych, jak też pewnych niezręcznych sformułowań w całym tekście, w tym także we Wstępie. Nie wpływa to na moją ocenę merytoryczną przedstawionej do recenzji rozprawy, choć chwilami bardzo utrudnia czytanie tekstu.

Kilka przykładów ze Wstępu:

Str. 31 – *neurogenę* brak „e”; *pozytonowej tomografii emisyjnej* – brak r

Str. 34 – cytat: „*Analiza lipidomiczna mózgow post mortem pacjentów z chA i mózgow zwierząt z chA ujawniły zmiany w poziomach kwasów tłuszczowych, ...*” – raczej mózgow zwierząt będących modelami chA, modelujących chA?

Str. 38 - cytat: „*receptora kwasu kwas N-metylo-D-asparaginianowego (NMDA), memantyny...*”

Str. 52 – cytat: „*Stres oksydacyjny jest również ważnym parametrem dobrze opisanym parametrem, który narasta wraz z wiekiem.*” I dalej: *Główną cechą charakterystyczną jest obniżony systemu obrony antyoksydacyjnej i upośledzonej aktywności mitochondrialnej fosforylacji oksydacyjnej (Grimm i Eckert, 2017).*

Str. 55 – cytat: „*Ponadto fuzja zmniejsza transfer Ca^{2+} z ER do mitochondrialne Ca^{2+} , aby zapobiec śmierci komórek indukowanej przez Ca^{2+} *” – niejasne zdanie ?

Inne uwagi do wstępu:

Str. 45 - cytat: „*Zwiększone uwalnianie nagromadzenie peptydów A β obserwuje się również w wyniku urazów mózgu, niedokrwienia oraz procesów zapalnych. Należy zaznaczyć, że zaburzenia mitochondrialne nie są również charakterystyczne tylko dla chA*”



Pytanie – w jakich innych schorzeniach mamy do czynienia z zaburzeniami mitochondrialnymi? Czy zwiększone nagromadzenie A β w wyniku urazów, niedokrwienia czy procesów zapalnych zależy od wieku? Czy są jakieś dane, że obserwuje się też np. w młodym wieku?

Str. 47 – cytat: „*Zmiany te stwierdzano w obszarach mózgu związanych z funkcjami poznawczymi, takich jak hipokamp i kora*”

Pytanie – czy wiadomo, w jakich częściach kory mózgowej obserwuje się zaburzenia funkcji kompleksów oddechowych w chA?

Przedstawione wprowadzenie dobrze koresponduje z założeniami pracy i uzasadnia wybrany cel rozprawy, sformułowany jasno. „**Celem pracy**” było bowiem zbadanie ekspresji genów, kodujących białka antyoksydacyjne, białka transportu elektronów, białka regulujące fuzję/podział i biogenezę mitochondriów oraz ocena poziomu wybranych białek mitochondrialnych w doświadczalnych modelach choroby Alzheimera. Ten główny, ogólny cel, został następnie szczegółowo opisany w 6 podpunktach, prezentujących kolejne zadania badawcze, służące do jego realizacji.

W Rozdziale „**Materiały i Metody**” (str. 63-77) doktorantka krótko przedstawia metodykę, wykorzystane materiały oraz użyte modele chA, w tym poza liniami komórkowymi (komórki PC12, komórki neuronalne SHSY-5Y i glejowe BV2) także, co zasługuje na uwagę, mysz model rodzinnej postaci chA. Doktorantka wykorzystwała dobrze dobrany, bogaty zestaw metod, w tym zarówno metody spektrofotometryczne do analizy przeżywalności komórek (test MTT) czy oceny aktywności oksydazy cytochromu C (kompleks IV ETC), metody spektrofluorometryczne do analizy poziomu wolnych rodników, jak też immunochemiczne (ocena poziomu białek metodą Western blot), metody mikroskopowe oraz qRT-PCR do analizy poziomu ekspresji genów, kodujących wybrane białka.

Opis użytych metod jest prawidłowy, choć niestety, jak wspomniałam wcześniej, również tutaj występuje trochę błędów stylistycznych czy interpunkcyjnych a także niezręczności językowych jak np. w kilku miejscach doktorantka pisze „*odpowiedni bufor, odpowiednie związki, odpowiednie traktowanie*”, pomimo tego, że to słowo nie miało sensu ani racji użycia w danym zdaniu. Należałoby podać konkretny rodzaj buforu, skład itp.

Brakuje też charakterystyki użytych sond Taqman – sekwencje, czym były znakowane (str. 75-76).

Pytanie do doktorantki: Czy wykorzystane w badaniach linie komórkowe były testowane na obecność zakażenia mykoplazmą? Jaki mógłby być wpływ takiego zakażenia na wyniki prezentowanych badań?

Inne uwagi:

W kilku miejscach w tekście, strony 68, 70, 74, 76, brak indeksu górnego, np. cytat str. 68: „*Komórki do analizy poziomu mRNA wysiewano z gęstością: 1-1,5 x 10⁶ na szalki o średnicy 10 cm lub 1 x 10⁶ komórek na szalki o średnicy 6 cm.*”

Str. 69 – cytat: „*...reakcję przekształcenia soli tetrazoliowych...*” – prawidłowa nazwa sole tetrazolowe

Str. 69 – cytat: „*fioletowe kryształki formaonu rozpuszczano w DMSO.*” – prawidłowa nazwa „formazanu”

Kolejny rozdział to **Wyniki**, w którym doktorantka przedstawia w sposób czytelny na 14 wykresach uzyskane wyniki badań.

Najważniejsze informacje płynące z uzyskanych wyników to fakt, że oligomery A β wpływają na ekspresję niektórych genów regulujących stan oksydo-redukcyjny w komórce (obniżenie mRNA dla SOD2, Sirt1 i PARP-1, obrona antyoksydacyjna) a także dynamikę (Fis1, Dnm1, Mfn1) jak też biogenezę mitochondriów (TFAM, Nrf2) i mogą stanowić jeden z ważnych czynników odpowiedzialnych za zaburzenia tych organelli w chA. Z kolei zastosowany inhibitor PARP-1, związek PJ-34 może działać cytoprotekcyjnie, korzystnie wpływając na transkrypcję genów zaangażowanych w funkcje mitochondriów, również w warunkach cytotoksyczności A β .



Zaobserwowano też podwyższony poziom mRNA kodującego podjednostkę kompleksu IV (mt-CO1) u 6-12 m-cznych myszy modelujących chA, przy obniżonej transkrypcji genów dla podjednostki mt-nd1 (kompleks I), oraz braku zmian w pozostałych podjednostkach kompleksów ETC. Choć z kolei w komórkach PC12, 24 godz. inkubacja z oligomerami A β nie wpływała na podjednostki kompleksów I-IV, natomiast po 96 godz. obserwowano obniżenie ekspresji genów dla podjednostek I-II-III transportu elektronów przy braku zmian podjednostki kompleksu IV. Zatem te zmiany są zależne zarówno od czasu działania peptydów A β a także rodzaju komórek (neurony, mikroglej).

Uwagi do Wykresów:

Niektóre wykresy mają opisy na osi Y w języku angielskim lub polskim - np. str. 81-82 wykres nr 4 A- podpis po polsku a 4B – po angielsku

Str. 81-82 – zarówno w tytule podrozdziału, opisie wyników jak i w podpisie pod Wykresem 4 mamy podane 3 części wykresów 4A, 4B i 4C. Natomiast Rycina 4 w pracy składa się tylko z 2 części: A i B? Brakuje „4C” czyli „wpływu A β na ekspresję genów podjednostek łańcucha transportu elektronów”. Z tekstu wynika, że w komórkach PC12 „A β O istotnie obniża ekspresję genów podjednostek kompleksów I (mt-Nd1), II (Sdh α) i III (mt-CytB) transportu elektronów (Wyk. 4C), nie wywiera wpływu na transkrypcję genu podjednostki kompleksu IV (mt-Co1).”

Podobny brak części wykresów występuje też przy Wykresie 8 str. 89-91, brak 8D? czyli wpływu A β O na ekspresję „genów podjednostek łańcucha transportu elektronów w komórkach SH-SY-5Y i BV2”.

Str. 89 – Podpis do Wykresu 7 – „Wpływ A β 1-42 na żywotność komórek BV2 i SHSY-5Y (A) oraz poziom reaktywnych form tlenu (B).” – natomiast na samym wykresie mamy 4 części A,B,C,D. Wg wykresów na W7 powinno być zamiast (A) - A, B (żywotność) oraz zamiast (B) powinno być C, D – poziom reaktywnych form tlenu

Str. 97 – w opisie wyników podrozdział „Poziom mRNA genów kodujących białka biogenezy mitochondriów w korze myszy transgenicznych z chA (APP+) i kontrolnych (APP-)” – brak odnośników w tekście do Wyk.11. Podobnie na stronach 100 (Wykres 12); str. 104 (Wykres 13).

Str. 100 ostatnie zdanie trudne do zrozumienia - cytat: „Podobnie jak nie towarzyszyły zmiany poziom immunoreaktywności tych białek kodowanych przez wymienione dla tych badane geny u 12 M myszy z mutacją londyńską.”

Str. 107 - Podpis pod Wykresem 14 – pokazana jest różnica * p<0.05, ale na wykresach nie ma nigdzie znamienności?

Ponadto, dość liczne błędy literowe, stylistyczne i inne (str. 78, 79, 83, 89); doktorantka w wielu miejscach różnie pisze oksydaza cytochromu C np. raz jest „oksydaza cytochromu C” a innym razem (np. str. 105) „aktywność cytochrom c-oksydazy (COX)” w tytule podrozdziału i poniżej w tekście.

W **DYSKUSJI** (108-127) doktorantka analizuje otrzymane wyniki na tle bogatej literatury w kontekście dotychczasowej wiedzy jak również wyników prac macierzystego Zespołu.

W ostatnich latach dostarczono wiele dowodów na rolę mitochondriów w patomechanizmie choroby Alzheimerera. Wiadomo też, że peptydy A β mogą aktywować mitochondrialne szlaki prowadzące do śmierci komórek. Wybór zmian zachodzących w mitochondriach, odgrywających ważną rolę m.in. w chA, w tym ocena genów kodujących białka fuzji/podziału/biogenezy mitochondriów, jak też parametrów stresu oksydacyjnego, bowiem gromadzące się złoże A β powodują uszkodzenie mitochondriów oraz uwalnianie wolnych rodników, jest uzasadniony i ważny.

Z kolei zastosowane metody, modele badawcze, w tym użycie zarówno różnych linii komórkowych (szczurze komórki rdzenia nadnerczy PC12, ludzkie komórki neuronalnych SHSY-5Y, mysie komórki mikrogleju BV2) jak też modelu mysiego rodzinnej postaci chA (3-6-12 m-czne myszy) z wprowadzonym

genem dla APP, zawierającym mutację londyńską, który cechuje się zwiększonym poziomem $A\beta_{1-42}$ oraz obecnością wielu objawów i cech chA, wydaje się być bardzo ważne z punktu widzenia ich znaczenia w patomechanizmie tej choroby jak też dla poszukiwania nowych, potencjalnych terapii.

Pytania:

- jakie cechy charakteryzują użyty model myszy chA poza zwiększonym poziomem $A\beta_{1-42}$? Jakie objawy występują u tych myszy i czy są one zależne od wieku? Jaka jest rola płci w tych zmianach? (nie znalazłam takiej informacji w pracy)

- jak uzyskane wyniki w modelu rodzinnej postaci chA można odnieść do formy sporadycznej, która jest jednak najczęściej występującą postacią tej choroby.

Uwagi

Str. 112 - czy doktorantka może odnieść się do faktu, że jak wykazała „*ekspresja genów kodujących kluczowe enzymy antyoksydacyjne czyli SOD1 i 2 przebiega odmiennie w zależności od typu komórek*”.

Wg informacji z pracy, ekspresja genu dla SOD2 była 4x wyższa w komórkach mikrogleju BV2 po 24 godz. traktowania $A\beta O$, natomiast w komórkach neuronalnych SHSY-5Y była zahamowana? Z czym można to wiązać? Czy można wysunąć jakąś sugestię, dlaczego zmiany ekspresji badanych genów w komórkach mikrogleju BV2 były silniej wyrażone niż w komórkach neuronalnych SHSY-5Y?

- Ważny, choć wynikający raczej z nieuwagi/roztargnienia wydaje mi się błąd na str. 112 – 113, cytat: „*W badaniach na komórkach PC12 stres oksydacyjny wywołany przez $A\beta$ indukuje obniżenie transkrypcji genów zaangażowanych w obronę antyoksydacyjną powodując zmniejszenie poziomu mRNA genów Sod1 i Sod2, a także pozostałych badanych genów kodujących enzymy antyoksydacyjne np. Cat po 96 godzinach inkubacji z $A\beta O$* ”.

A wg Wykresu 4A (str. 81) – w komórkach PC12 po 24 godz. nie ma żadnych zmian, natomiast są rzeczywiście po 96 godz. we wszystkich badanych genach kodujących enzymy antyoksydacyjne (Sod1, Sod2, Gsr, Gpx1, Gpx4) ale nie Katalazy (Cat)!

W „Dyskusji” pojawiają się również pewne niezręczne sformułowania lub drobne błędy. np. str. 128 – wypadł wyraz „stresu” pkt 3: „*Wyniki demonstrowują istotne obniżenie poziomu mRNA dla białek zaangażowanych w obronę antyoksydacyjną: SOD2, Sirt1 i PARP-1 we wczesnych etapach choroby, co w efekcie może przyczynić się do wzrostu oksydacyjnego i osłabienia szlaku przeżycia komórki.*”

„**Wnioski**”(str.130) – w 1 punkcie doktorantka pisze: „*Zmiany transkrypcji genów w wyniku działania peptydów $A\beta$ zależą od czasu ich działania, rodzaju komórek a w przypadku zwierzęcego modelu chA od wieku, stadium zaawansowania zmian patologicznych oraz części mózgu.*”

- skąd ten wniosek o roli „części mózgu”? Doktorantka w swoich badaniach pokazuje jedynie zmiany w korze mózgu samic myszy, natomiast fakt badań u 3-6-12M myszy pozwala na wniosek o roli wieku, czy stadium zaawansowania zmian patologicznych.

Rycina 7 po „Wnioskach” (str. 131), która stanowi podsumowanie przedstawionych wyników, wskazujących na zaburzenia mitochondrialne w mysim modelu chA.

Na rycinie rozumiem, że dokonano pewnych uproszczeń, choć są też chyba pewne nieścisłości bowiem np. – nie pokazano zmian mt-Nd1 u 12M myszy (spadek, kompleks I), jest tylko wzrost mt-CO1 u 12M a także u 3-6 M; natomiast wg opisu wyników i wykresu 13 obserwowano brak zmian u 3M, oraz wzrosty u 6M i 12M.

Na koniec mamy jeszcze rozdział „**Innowacyjność Rozprawy**”- str. 145-146, w którym zostały podkreślone najważniejsze wyniki przeprowadzonych badań, jak też wypunktowane te, które stanowią o ich znaczeniu i innowacyjności.

Badania, przeprowadzone w ramach tej rozprawy doktorskiej mgr Żulińskiej wskazują na znaczenie toksyczności oligomerów peptydów $A\beta_{1-42}$ w zmianach transkrypcji genów, zaangażowanych w procesy antyoksydacyjne (*Sod2, Sirt1, PARP-1*) i regulację dynamiki /biogenezy mitochondriów.

Przy czym jak wykazała doktorantka, efekt toksyczności A β O zależy od rodzaju komórek, na które działają i od czasu działania.

Na podkreślenie zasługują też:

- badania szerokiego wachlarza genów zaangażowanych w ochronę antyoksydacyjną jak też dynamikę i biogenezę mitochondriów w korze mózgu myszy, modelujących rodzinną chA przy uwzględnieniu czynnika wieku (3-6-12M) – po raz pierwszy badano tak wiele genów w modelu chA w procesie starzenia;
- wyniki wskazujące, że aktywacja biogenezy mitochondriów (*Nrf2*, *PGC-1 α* i *PPAR- α*) mogłaby mieć korzystne znaczenie w opracowaniu nowej strategii terapeutycznej w zaawansowanych stadiach chA;
- wyniki pokazujące po raz pierwszy w warunkach toksyczności peptydów A β O, że hamowanie PARP-1 powoduje wzrost poziomu mRNA dla enzymów antyoksydacyjnych, białek dynamiki mitochondriów oraz podjednostki II kompleksu oddechowego; wydaje się, że zastosowanie inhibitora PARP-1 w odpowiedniej dawce i czasie, może mieć istotne działanie cytoprotekcyjne, również w chA;
- badania wskazujące po raz pierwszy że oksydaza cytochromu C, ostatni enzym w łańcuchu transportu elektronów (ETC), utrzymuje swoją aktywność na niezmiennym poziomie w toksyczności A β O zarówno w liniach komórkowych (SHSY-5Y, BV2) jak też w korze mózgu myszy modelujących chA, co wskazuje na jej znaczenie w utrzymaniu jak najdłużej funkcji mitochondriów.

Ponadto, uzyskane wyniki poszerzają i uzupełniają stan wiedzy, dotyczący znaczenia peptydów oligomerów A β O w regulacji/modulacji transkrypcji genów i mogą być pomocne w opracowaniu nowych strategii neuroprotekcyjnych.

Podsumowując, uważam rozprawę doktorską mgr Sylwii Żulińskiej za bardzo ważną ze względu na trafny wybór tematyki, zakres badań i użycie różnych typów komórek oraz modelu mysiego rodzinnej formy choroby Alzheimera. Przemyślana koncepcja pracy i szeroki zakres badań eksperymentalnych pozwoliły na uzyskanie wielu ciekawych, oryginalnych wyników. Wzbogacają one dotychczasowy stan wiedzy o patomechanizmach tej choroby, potwierdzając ogromną rolę udziału zaburzeń mitochondrialnych. Mogą się także przyczynić do wyjaśnienia molekularnych mechanizmów oraz poszukiwania nowych, skutecznych strategii terapeutycznych chA. Doktorantka wykazała się rozległą wiedzą teoretyczną oraz umiejętnością samodzielnego prowadzenia pracy naukowej oraz przygotowania obszernej dysertacji. Doktorantka realizując cel rozprawy miała też możliwość opanowania wielu nowoczesnych metod i technik laboratoryjnych a uzyskane wyniki zostały wcześniej starannie opracowane i opublikowane w 4 pracach anglojęzycznych (ostatnia w recenzjach) o wysokim współczynniku wpływu IF (>4).

W mojej opinii przedłożona do oceny rozprawa doktorska całkowicie spełnia określone ustawowo wymogi stawiane rozprawom na stopień doktora i mam zaszczyt przedstawić Wysokiej Radzie Naukowej Instytutu Medycyny Doświadczalnej i Klinicznej im. Mirosława Mossakowskiego PAN w Warszawie wniosek o dopuszczenie Pani mgr Sylwii Żulińskiej do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Prof. dr hab. Jadwiga Wardas

