

Biała Podlaska, 12.03.2026r.

**Prof. dr hab. Małgorzata Chalimoniuk,  
Zakład Podstaw Fizjoterapii  
Akademia Wychowania Fizycznego Józefa Piłsudskiego  
w Warszawie, Filia w Białej Podlaskiej  
ul. Akademicka 2  
21-500 Biała Podlaska  
Tel: 798058800  
mail: m.chalimoniuk@awf.edu.pl**

## **OCENA**

**rozprawy doktorskiej mgr Kariny Wasilewskiej pt.: „Charakterystyka kompleksów  
płytkowo-leukocytarnych i analiza miRNA jako wskaźników stanu zapalnego i  
neurodegeneracji w rzutowo-remisyjnej i wtórnie postępującej postaci stwardnienia  
rozсіяnego”**

### ***Struktura pracy***

Dysertacja, którą otrzymałam do oceny liczy 165 stron i 13 załączników. Rozprawa doktorska składa się z cyklu powiązanych tematycznie 6 artykułów, w tym 5 opublikowanych (3 przeglądowych i 2 oryginalnych) oraz jednego oryginalnego artykułu w przygotowaniu do druku, który został wysłany do recenzowanego czasopisma naukowego. W rozprawie doktorskiej Autorka przedstawiła wyniki swoich badań wykonane w Katedrze Biochemii Ogólnej Wydziału Biologii i Ochrony Środowiska, w ramach Szkoły Doktorskiej Nauk Ścisłych i Przyrodniczych, Uniwersytetu Łódzkiego. Badania opisane w rozprawie były wykonane i finansowane w ramach realizacji: projektu grantowego OPUS 16 z NCN oraz projektu wewnątrzuczelnianego UŁIDUB i funduszy Szkoły Doktorskiej UŁ.

Sumaryczny Impac Faktor cyklu powiązanych tematycznie prac wchodzących do rozprawy doktorskiej wynosi 25.008 i 700pkt MNiSW, co stanowi ponadprzeciętną wartość.

Rozprawa doktorska ma klasyczny układ dla cyklu prac monotematycznych. Praca podzielona jest na następujące części: 1) streszczenia (polskiego, angielskiego) 2) wprowadzenia do badanej tematyki (50 stron), 2) celu pracy (1 strony), 3) materiału i metod badań (3 strony), 4) omówienie publikacji naukowych wchodzących w skład dysertacji (18

stron), 5) kopii publikacji naukowych (15 stron), oraz 6) 13 oświadczeń o udziale w publikacjach współautorów.

### ***Uzasadnienie podjęcia tematu badań - wprowadzenie i omówienie trzech prac poglądowych***

Autorka we wprowadzeniu uzasadnia podjęcie tematu badań i wskazuje na nowatorski charakter podejmowanych badań. Celem ogólnym podjętych przez Kandydatkę badań jest uzupełnienie o nowe dane z obszaru identyfikacji nieinwazyjnych biomarkerów stwardnienia rozsianego (MS) oraz w celu uzyskania ewentualnej możliwości różnicowania fenotypu choroby (RRMS i PSPMS), oraz monitorowania postępu leczenia.

W pierwszej publikacji poglądowej Kandydatka omawia rolę miRNA-155 jako 1) cząsteczki zdolnej do silnej aktywacji szlaków zapalnych w patogenezie MS, 2) jej wpływu na procesy demielinizacyjne, uszkodzenie bariery krew mózg (BBB), ból neuropatyczny oraz objawy neuropsychiczne, 3) biomarkera do monitorowania aktywności MS i odpowiedzi na leczenie oraz 4) regulację poziomu miR155 jako potencjalnego celu terapeutycznego.

W drugiej publikacji poglądowej skupiono się na roli regulacji procesu neurozapalnego przez miRNAs w mechanizmie naprawczym jakim jest remielinizacja w MS. Zwrócono w niej uwagę, że dostępne immunoterapie skutecznie wyciszają reakcje zapalną ale nie mają jednoznacznego wpływu na odbudowę mieliny. W pracy omówiono udział wybranych miRNA (miR223 czy miR155-3P, miR204) w procesie demielinizacji.

Trzecia praca poglądowa skupia się na nieinwazyjnych biomarkerach pochodzenia mózgowego (NfL, GFAP, L1CAM) w odpowiedzi na leczenie MS.

Ta część pracy jest przekonującym uzasadnieniem dla podjętego celu badań i szczególnie celowości badań nad krążącymi miRNA i białkami pochodzenia mózgowego jako nie inwazyjnych biomarkerów aktywności przebiegu procesów patofizjologicznych pozwalających na różnicowanie fenotypu choroby i monitorowanie leczenia MS.

Z obszernej literatury światowej dotyczącej choroby MS Autorka właściwie dokonała selekcji literatury związanej z przedmiotem badań opierając się na piśmiennictwie angielskojęzycznym z ostatnich lat. To świadczy o dobrym przygotowaniu teoretycznym Kandydatki do podjętych badań.

### ***Cel***

Autorka precyzyjnie sformułowała cel pracy, którym była ilościowa, jakościowa charakterystyka PLAs jako czynnika patofizjologii MS oraz analiza ekspresji cząsteczek

miRNA pochodzących z krążących EVs oraz oceną ich potencjału jako markerów fenotypu choroby u pacjentów z RRMS oraz SPMS. Uzupełnieniem badań była analiza profilu białek zaangażowanych w immunologiczną odpowiedź organizmu oraz ich roli jako potencjalnych biomarkrów służących do monitorowania odpowiedzi na leczenie rytuksymabem w RRMS. Cel badań skonkretyzowano poprzez sformułowanie sześć zadań badawczych.

### ***Część doświadczalna dysertacji***

#### ***Material i metody***

Pani mgr Karina Wasilewska poprawnie dobrała grupę badanych pacjentów z MS oraz wyselekcjonowała materiał pobrany od pacjentów z MS. Poprawne są też metody badawcze służące do zrealizowania postawionych celów badań.

W pierwszej pracy (P dośw.1) doświadczalnej materiałem do badań była krew pełna pobrana na antykoagulant od 35 pacjentów z RRMS i 55 pacjentów z SPMS i 55 zdrowych ochotnikach.

W drugiej pracy (manuskrypcie nie opublikowanym) materiałem do badań była krew pełna pobrana na antykoagulant, krew pełna pobrana bez antykoagulantu (surowica) i płyn CSF pobrany od 30 pacjentów z RRSM i 30 pacjentów z nowo zdiagnozowanym SPMS oraz 30 zdrowych ochotnikach.

W trzeciej pracy (P dośw. 2) materiałem badawczym były próbki surowicy i CSF przed i próbki surowicy po 6 miesiącach leczenia anti-CD20 od pacjentów z nowo rozpoznaną RRMS. Grupę kontrolną w tej pracy stanowili ochotnicy, od których pobrano surowice.

Na szczególne podkreślenie zasługuje, że Doktorantka w swoich badaniach wykorzystwała liczne najnowocześniejsze metody badawcze 1) immunochemiczne jak: izolacja płytek krwi, izolacja komórek jednojądrzastych i oczyszczanie leukocytów za pomocą kuleczek magnetycznych sprzężonych z przeciwciałami anti-CD45, izolacja EVs z osocza, oznaczanie stężeń panelu 21 białek w EVs wyizolowanych z surowicy i CFS metodą PEA, pomiar panelu 27 cytokin metodą luminex z zastosowaniem systemu bio-plex, oznaczenie białek metodą ELISA, oznaczenie cytokin i oznaczenia aktywności płytek krwi metodą cystometrii przepływowej, 2) biologii molekularnej, izolacji i oznaczania poziomu miRNA oraz sekwencjonowanie.

Wszystkie wyżej wymienione metody cechuje wysoka swoistość, a co za tym idzie dokładność uzyskanych wyników.



Autorka w każdej pracy doświadczalnej prawidłowo przeprowadziła analizę statystyczną wyników przy użyciu adekwatnych testów analizy statystycznej.

Autorka uzyskała zgodę Komisji ds. Bioetyki. Badań Naukowych Uniwersytetu Łódzkiego Uchwała nr 3/KBBN-UŁ/IV/2018 oraz Regional Committee for Medical and health research Ethics Western Norway-RECWest ID:66391.

### ***Wyniki***

Doktorantka opisuje swoje wyniki kolejno w pracy 1, manuskrypcie nie opublikowanym i pracy 2 zgodnie z postawionymi celami badań. Otrzymane wyniki są opisane zrozumiale i już zostały poddane ocenie przez Recenzentów czasopism, w których zostały opublikowane.

Reasumując, czytelnik otrzymuje jasny obraz wyników badań zgodny ze stawianymi celami.

### ***Dyskusja***

W każdej z prac badawczych uzyskane wyniki Autorka skomentowała w oparciu o najnowsze badania opublikowane w anglojęzycznym piśmiennictwie o zasięgu światowym. W większości są to najnowsze oryginalne prace eksperymentalne o zasięgu światowym. Autorka kończy każdą dyskusję ogólnym podsumowaniem uzyskanych wyników formułując wnioski.

Do najważniejszych wniosków, czyli osiągnięć naukowych wynikających z przeprowadzonych badań zaliczyłabym: 1) PLAs wskazują na istotne znaczenie interakcji płytka-limfocyt B w przebiegu patofizjologii MS, szczególnie w postaci progresywnej łącząc mechanizm pozakrzepowy przewlekłym zapalnym 2) fenotyp RRMS i SPMS wykazują odmienną ekspresję cząsteczek miRNA wyizolowanych z EVs, swoiste sygnatury wzbogacania funkcjonalnego miRNA oraz odrębne profile sieci powiązań miRNA-RNA, tym samym odzwierciedlając różne mechanizmy, 3) panel obejmujący miR98-5p, miR-301a-3p, miR-223-3p i FGF basic wykazuje wysoką zdolność dyskryminacji fenotypów RRMS i SPMS i dzięki temu mogą być brany jako markery wspierania nieinwazyjnego monitorowania choroby 4) w przebiegu leczenia anti-CD2020 u pacjentów z RRMS obserwuje się obniżenie liczby LiCAM EVs w surowicy 5) LiCAM EVs mogą stanowić dynamiczny, nieinwazyjny biomarker służący do monitorowania odpowiedzi na leczenie anti-CD2020 u pacjentów RRMS, który po odpowiedniej walidacji może wspierać zindywidualizowane schematy dawkowania rytusymabu i ograniczyć ryzyko nadmiernej immunosupresji. Są to osiągnięcia



oryginalne i nowatorskie. Oprócz wartości poznawczej związanej z mechanizmami zapalnymi toczącymi się w MS mogą stanowić podstawę do dalszych badań o charakterze aplikacyjnym.

### ***Uwagi krytyczne***

Po zapoznaniu się z rozprawą doktorską mgr Kariny Wasilewskiej nie nasuwają mi się istotne uwagi krytyczne. Natomiast uzyskane wyniki badań inspirują mnie do przedstawienia kilku kwestii, które chciałbym aby Doktorantka przedyskutowała w podczas obrony dysertacji. Są one następujące:

- 1) czy wytypowane biomarkery (miRNA) mogą być wykorzystane do diagnozy transformacji typu RRSM na SPMS u pacjenta?
- 2) wiadomo, że często specyficzne miRNA reguluje wiele procesów w organizmie. Zatem, czy ewentualny wpływ na poziom wytypowanego/wych miRNA może wpłynąć na zahamowanie procesu chorobowego MS?
- 3) czy istnieją sposoby zapobiegania tworzeniu PLAs powstałych z interakcji płytek z limfocytami B ?

### ***Uwagi dotyczące pozostałego dorobku naukowego***

Chcę podkreślić, że Doktorantka oprócz cyklu publikacji wchodzących do rozprawy doktorskiej posiada 6 publikacji stanowiących znaczący – na tym etapie kariery akademickiej - dorobek naukowy o sumarycznym IF=31.674 i 1540 pkt MNiSW. Ponadto uczestniczyła jako wykonawca w 4 projektach badawczych: OPUS 16, 2 projektach badawczych UŁ, projektu finansowego z norweskiego mechanizmu finansowego 014-2021. Swoje wyniki prezentowała na 16 konferencjach międzynarodowych. Za swoją działalność naukową otrzymała 4 nagrody Rektora dla doktorantów w latach 2020-2023. Te aktywności dodatkowo potwierdzają, że wystąpienie Kandydatki o nadanie stopnia naukowego doktora jest w pełni uzasadnione.

### ***Uwagi końcowe***

Zapoznałam się z pracą z wielkim zainteresowaniem. Uważam, że rozprawa doktorska w pełni spełnia wymagania merytoryczne i formalne jakie stawia się tego typu opracowaniom. Dysertacja dotyczy nowatorskich zagadnień badawczych. Rozprawa doktorska spełnia warunki określone w Ustawie z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 2018r, poz. 1668.).



Z prawdziwą przyjemnością wnoszę do Komisji Uniwersytetu Łódzkiego do spraw stopni naukowych w dyscyplinie/dyscyplinach nauki biologiczne o **dopuszczenie do dalszych etapów postępowania doktorskiego autorkę tej pracy Panią mgr Karinę Wasilewską.**

Jednocześnie wnoszę do Komisji UŁ ds stopni naukowych w dyscyplinie nauki biologiczne o **wyróżnienie rozprawy doktorskiej** w szczególności ze względu: 1) na oryginalne i nowatorskie wyniki badań wchodzących w skład rozprawy doktorskiej, 2) oraz jej wkładu w uzupełnienie istniejącej luki wiedzy; 3) wykorzystanie licznych najnowocześniejszych metod badawczych o wysokiej swoistości, oraz 4) wysokie wskaźniki bibliometryczne, tj. rozprawy doktorskiej sumaryczny IF 25.00 cyklu, pozostałego dorobku - 31.674 (sumaryczny IF=56.682), wysokiego H-index -7 oraz liczby cytowani 156.

Rozprawa doktorska oraz pozostały dorobek naukowy świadczy o wszechstronnej znajomości zagadnień teoretycznych w obrębie reprezentowanej dyscypliny naukowej, a także o zaawansowanych umiejętnościach w zakresie prowadzenia badań oraz ich rzetelnej interpretacji.

