



Pomorski Uniwersytet Medyczny w Szczecinie

Zakład Rehabilitacji Medycznej i Fizjoterapii Klinicznej

Prof. dr hab. n. med. i n. o zdr. Iwona Rotter

Katedra i Zakład Rehabilitacji Medycznej i Fizjoterapii Klinicznej PUM

Ul. Żołnierska 54, 71-210 Szczecin

Szczecin, 21.02.2026

Recenzja rozprawy doktorskiej mgr Kariny Wasilewskiej pt. „Charakterystyka kompleksów płytkowo-leukocytarnych i analiza ekspresji miRNA jako wskaźników stanu zapalnego i neurodegeneracji w rzutowo-remisyjnej i wtórnie postępującej postaci stwardnienie rozsianego”

Podstawę opracowania recenzji przeze mnie stanowi decyzja Komisji Uniwersytetu Łódzkiego do spraw stopni naukowych w dyscyplinie nauki biologiczne podjęta 11.12.2025 o powołaniu mnie do funkcji recenzenta rozprawy doktorskiej pani mgr Kariny Wasilewskiej.

Rozprawa doktorska pt. „Charakterystyka kompleksów płytkowo-leukocytarnych i analiza ekspresji miRNA jako wskaźników stanu zapalnego i neurodegeneracji w rzutowo-remisyjnej i wtórnie postępującej postaci stwardnienie rozsianego” została przygotowana przez panią mgr Karinę Wasilewską (poprzednie nazwisko Maciak) ze Szkoły Doktorskiej Nauk Ścisłych i Przyrodniczych Uniwersytetu Łódzkiego pod kierunkiem promotora prof. dr hab. Joanny Saluk oraz promotora pomocniczej dr Angeli Dzedzic w Katedrze Biochemii Ogólnej Wydziału Biologii i Ochrony Środowiska Uniwersytetu Łódzkiego. Rozprawa została przygotowana w oparciu o monotematyczny cykl pięciu publikacji, w tym trzech przeglądowych i dwóch doświadczalnych oraz jednego manuskryptu wysłanego do czasopisma naukowego (praca doświadczalna).

Ocena zasadności podjęcia tematu

Stwardnienie rozsiane (SM) jest przewlekłą zapalną chorobą układu nerwowego o podłożu autoimmunologicznym. W przebiegu choroby dochodzi demielinizacji, a nawet uszkodzenia aksonów i neurodegeneracji. Choroba najczęściej dotyka młodych osób i mimo ogromnych postępów w leczeniu w ostatnich latach nadal jest nieuleczalna i może prowadzić do ciężkiej niepełnosprawności. Najczęściej występującą postacią choroby jest postać rzutowo-remisyjna, w której po okresie pogorszenia neurologicznego dochodzi do redukcji objawów, jednak w toku trwania choroby postać ta często przechodzi w postać wtórnie przewlekle postępującą, co wiąże się z narastającą niepełnosprawnością osób chorych. Obecny postęp w leczeniu jest konsekwencją stale prowadzonych badań nad patogenezą SM. Coraz więcej dowodów wskazuje na ważny udział mechanizmów naczyniowych w patogenezie SM. Badania dowodzą, że silne pobudzenie płytek krwi w SM wzmacnia procesy komunikacji międzykomórkowej z komórkami układu odpornościowego, co sprzyja dysfunkcji śródbłonna w wyniku adhezji powstających agregatów płytkowo-leukocytarnych, rekrutacji i infiltracji leukocytów oraz prowadzi do naruszenia integralności bariery krew-mózg i sprzyja rozwojowi procesu zapalnego. Wciąż poszukuje się biomarkerów, zwłaszcza takich, które można by oznaczyć we krwi, które mogłyby być użyteczne w monitorowaniu przebiegu choroby, w tym ocenie aktywności procesu zapalnego, a także ocenie odpowiedzi na leczenie. Stąd też badania Doktorantki dotyczące identyfikacji nieinwazyjnych markerów w SM, które różnicują fenotypy choroby uważam za zasadne.

Organizacja pracy i ocena formalna

Rozprawa doktorska mgr Kariny Wasilewskiej zawiera w kolejności stronę tytułową, podziękowania Autorki dla rodziny, promotora i promotora pomocnicznego, współautorów, spis treści, informacje wprowadzające, które informują o źródle finansowania badań i jednostkach, z którymi Doktorantka współpracowała i w których realizowała badania. Następnie Autorka wskazała dorobek naukowy stanowiący podstawę rozprawy doktorskiej, pozostały dorobek naukowy, w tym spis publikacji oraz wykaz wystąpień konferencyjnych, dane naukometryczne, wymieniła uzyskane nagrody oraz projekty, w których brała udział jako kierownik i wykonawca, odbyte szkolenia, opisała działalność organizacyjną i przynależność do towarzystw naukowych, w dalszej kolejności znajduje się dobrze przygotowane streszczenie w języku polskim i angielskim oraz wykaz skrótów. Następnie znajduje się główna część pracy doktorskiej, która zawiera wprowadzenie, cel pracy, opis materiału i metod,

omówienie publikacji naukowych i manuskryptu stanowiących cykl stanowiący sedno dysertacji, podsumowanie i wnioski oraz bibliografia. W części końcowej Doktorantka zawarła kopie publikacji naukowych i manuskryptu wchodzących w skład pracy doktorskiej, oświadczenia Doktorantki i współautorów o wkładzie w poszczególne publikacje. Dysertacja poza oświadczeniami współautorów publikacji mieści się na 165 stronach. Przedłożona do oceny rozprawa doktorska jest prawidłowa pod względem formalnym, poszczególne elementy rozprawy zostały ułożone w logicznej kolejności, a jest układ jest typowy dla prac doktorskich przygotowywanych w oparciu o cykl publikacji. Rozprawa jest prawidłowa pod względem językowym.

Autorka wskazała źródła finansowania pracy: Narodowe Centrum Nauki: OPUS16 (kierownik promotor rozprawy prof. dr hab. Joanna Saluk), Uniwersytet Łódzki: Grant badawczy UŁ IDUB #UniLodz nr 65/2021 (kierownik: promotor rozprawy prof. dr hab. Joanna Saluk), Szkoła Doktorska Nauk Ścisłych i Przyrodniczych Uniwersytetu Łódzkiego.

Ocena merytoryczna pracy doktorskiej

Na cykl publikacji stanowiący rozprawę doktorską składa się sześć prac, w tym pięć opublikowanych artykułów i jeden manuskrypt, który jak deklaruje Doktorantka, został wysłany do recenzowanego czasopisma naukowego. W ocenianym cyklu znajdują się trzy publikacje przeglądowe, w których w dwóch Doktorantka jest pierwszą autorką, a w trzeciej drugą oraz dwie oryginalne publikacje doświadczalne, w tym w jednej mgr Karina Wasielewska jest pierwszą autorką, a w drugiej drugą, a ponadto jeden manuskrypt pracy doświadczalnej z pierwszym autorstwem kandydatki do stopnia doktora. Pięć publikacji cyklu zostało wydanych w czasopismach ze współczynnikiem wpływu IF.

Należy podkreślić, że część badań była prowadzona w zespole międzynarodowym we współpracy z badaczami norweskimi w ramach badania klinicznego OVERLORD-MS realizowanego w szpitalu Haukeland University Hospital w Bergen. Ponadto Doktorantka współpracowała z Uniwersyteckim Laboratorium Naukowym CoreLab i Kliniką Rehabilitacji Neurologicznej Uniwersytetu Medycznego w Łodzi oraz Instytutem Immunologii i Terapii Doświadczalnej im. L. Hirszfelda PAN, co świadczy o umiejętności współpracy w zespołach badawczych.

Prace wchodzące w skład cyklu:

Publikacje przeglądowe:

1. **Maciak K**, Dziedzic A, Miller E, Saluk-Bijak J. "miR-155 as an Important Regulator of Multiple Sclerosis Pathogenesis. A Review". *Int. J. Mol. Sci.* 2021, 22(9), 4332

Punkty MNiSW = 140; IF = 6,208

2. **Maciak K**, Dziedzic A, Saluk J. "Remyelination from the miRNA perspective". *Front Mol Neurosci.* 2023, 16:1199313

Punkty MNiSW = 140; IF = 3,5

3. Anandan S, **Maciak K**, Breinbauer R, Mostafavi S, Kvistad CE, Torkildsen O, Myhr KM. "Brain-derived blood biomarkers in multiple sclerosis-current trends and beyond". *Front Immunol.* 2025, 16:1569503

Punkty MNiSW = 140; IF = 5,9

Prace doświadczalne

4. **Maciak K**, Dziedzic A, Szymański J, Studzian M, Redlicka J, Miller E, Michlewska S, Józwiak P, Saluk J. "Human B-cells can form Heteroaggregates with Blood Platelets: A Novel Insight into Adaptive Immunity Regulation in Multiple Sclerosis". *J Mol Biol.* 2025, 437(2):168885

Punkty MNiSW = 140; IF = 4,5

5. Anandan S, **Maciak K**, Breinbauer R, Otero-Ortega L, Feliciello G, Stojanović Gužvić N, Torkildsen O, Myhr KM. "In-Depth Characterization of L1CAM+ Extracellular Vesicles as Potential Biomarkers for Anti-CD20 Therapy Response in Relapsing–Remitting Multiple Sclerosis". *Int. J. Mol. Sci.* 2025, 26(15), 7213

Punkty MNiSW = 140; IF = 4,9

Manuskrypt nieopublikowany

6. **Wasilewska K**, Dziedzic A, Anandan S, Miller E, Łaczmanski Ł, Zajdel R, Michlewska S, Kujawa D, Gancarek M, Raczkowska J, Włodarczyk L, Nowak P, Saluk J. "Extracellular vesicle-derived miR-760 as a novel candidate marker differentiating stable RRMS from SPMS".

Sumaryczna liczba punktów MNiSW cyklu publikacji: 700

Sumaryczny IF cyklu publikacji: 25,008

Doktorantka nie podała informacji o liczbie cytowań prac włączonych do cyklu, a biorąc pod uwagę fakt, że znajdują się w nim publikacje wydane w 2021 roku i 2023 roku takie cytowania mogły się pojawić.

Zastanawiające jest, dlaczego Doktorantka wskazując prace cyklu napisała, że składa się on z czterech prac opublikowanych i jednego manuskryptu, podczas, gdy jest to pięć opublikowanych prac i jeden manuskrypt.

Publikacje stanowiące pozostały dorobek naukowy Doktorantki dowodzą jej dużej aktywności naukowej i świadczą o spójnym kierunku zainteresowań naukowych.

Celem głównym badań przedstawionych w ocenianej rozprawie doktorskiej była ilościowa, jakościowa i funkcjonalna charakterystyka agregatów płytkowo-leukocytarnych (PLAs) jako czynnika patofizjologii MS oraz analiza ekspresji cząsteczek miRNA pochodzących z krążących pęcherzyków zewnątrzkomórkowych (EVs) z oceną ich potencjału jako markerów umożliwiających różnicowanie fenotypów SM u pacjentów z postacią rzutowo-remisyjną (RRMS) w fazie remisji oraz wtórnie przewlekle postępującą (SPMS). Ponadto celem badań była analiza profilu białek zaangażowanych w immunologiczną odpowiedź organizmu, przenoszonych przez EVs pochodzenia neuronalnego (L1CAM+) oraz ich roli jako potencjalnych biomarkerów służących do monitorowania odpowiedzi na leczenie rytuksymabem w RRMS. Aby zrealizować cele badań Doktorantka ze współbadaczami zaplanowali i przeprowadzili 6 zadań badawczych. Cele i zadania badawcze zostały sformułowane w sposób jasny, logiczny, dobrze przemyślany i zrozumiały.

Doktorantka wraz ze współbadaczami pozyskali materiał badawczy od pacjentów z SM zarówno z Polski (Klinika Rehabilitacji Neurologicznej Miejskiego Centrum Medycznego im. Karola Jonschera w Łodzi), jak i z Norwegii (szpitalu Haukeland University Hospital w Bergen). Do badań zgodnie z przyjętymi założeniami kwalifikowani byli pacjenci z postacią rzutowo-remisyjną oraz wtórnie przewlekle postępującą.

Doktorantka szczegółowo opisała metody badawcze, w tym sposób przygotowania materiału biologicznego, jakim była krew pełna do badań analitycznych oraz metodykę badań, w tym izolację pytek krwi oraz jednojądrzastych komórek, izolacja EVs z osocza krwi, oczyszczanie populacji L1CAM+ EVs, metody ocena jakości wyizolowanych EVs i ich charakterystyki, metody oznaczenie

stężenia panelu białek w EVs oraz pomiaru stężenia panelu 27 cytokin w osoczu, osoczowego stężenia wybranych białek, izolacji całkowitego RNA z EVs, syntezy komplementarnego DNA i sekwencjonowania RNA, jak również analizy różnicowej ekspresji miRNA, oceny stopnia migracji leukocytów w kierunku płytek krwi i oceny ekspresji markerów powierzchniowych na płytkach krwi i limfocytach, znakowania immunofluorescencyjne i wizualizacja PLAs. Przewidywała metody bioinformatycznej analizy danych surowych uzyskanych z sekwencjonowania RNA, predykcji genów docelowych miRNA i analizy wzbogacenia funkcjonalnego oraz analiza statystyczna wyników. Ta ogromna liczba zastosowanych metod świadczy o doskonałym zaplanowaniu metodologii, umiejętnościach analitycznych, pracowitości i sumienności Doktorantki.

Część teoretyczna rozprawy doktorskiej, na którą składają się 3 publikacje przeglądowe stanowi wprowadzenie i uzasadnienie badań doświadczalnych, które były współprowadzone przez Doktorantkę, a ich wyniki zostały zaprezentowane w publikacjach doświadczalnych. W pierwszej publikacji przeglądowej zatytułowanej „miR-155 as an Important Regulator of Multiple Sclerosis Pathogenesis. A Review”, w której Doktorantka opracowała koncepcję pracy, gromadziła piśmiennictwo, współtworzyła manuskrypt, odpowiadała na uwagi recenzentów, omówiona została rola cząsteczki miRNA-155 (miR-155) w patogenezie SM. Artykuł uzasadnia także celowość badań nad krążącymi miRNA jako nieinwazyjnymi wskaźnikami aktywności procesów patofizjologicznych w MS. W drugiej publikacji przeglądowej pt. “Remyelination from the miRNA perspective”, w której mgr Karina Wasilewska jako pierwsza autorka i autorka korespondencyjna brała udział w opracowaniu koncepcji pracy, zbieraniu i analizowaniu piśmiennictwa, współtworzeniu manuskryptu, ponadto Doktorantka przygotowała figurę, odpowiadała na uwagi recenzentów, przedstawione zostały szczegółowo zagadnienia regulacji neurozapalnej przez cząsteczki miRNA. W pracy zwrócono uwagę, że dostępne terapie modyfikujące przebieg SM skutecznie wyciszają aktywność zapalną, natomiast brak jest postępowania jednoznacznie przyspieszającego odbudowę mieliny. Omówiono również udział wybranych miRNA w poszczególnych etapach procesu remielinizacji podkreślając, że miR-219 zajmuje kluczową pozycję w sieci regulacyjnej wspierającej naprawę uszkodzeń mieliny. Trzecia publikacja, w której Doktorantka jest drugą autorką, a jej udział w tej pracy wiązał się z współtworzeniem koncepcji pracy, gromadzeniem piśmiennictwa, przygotowaniu tabeli z charakterystyką biomarkerów, przygotowaniem figury i wprowadzeniem poprawek po recenzjach, autorzy na podstawie przeglądu piśmiennictwa wskazują, że biomarkery pochodzenia mózgowego oznaczane we krwi mogą umożliwić nieinwazyjne śledzenie aktywności

SM i odpowiedzi na leczenie. Wszystkie publikacje przeglądowe zostały przygotowane rzetelnie, wnikliwie, z troską o szczegóły i prezentują wysoki poziom merytoryczny.

W pierwszej publikacji doświadczalnej pt. "Human B-cells can form Hetero-aggregates with Blood Platelets: A Novel Insight into Adaptive Immunity Regulation in Multiple Sclerosis", w której Doktorantka jest pierwszą autorką, przedstawione zostały wyniki badań ukierunkowanych na charakterystykę zjawiska tworzenia PLAs jako niezbadanego dotychczas elementu patofizjologii SM w kontekście naczyniowo-immunologicznym. Badaniami objęto 38 chorych na RRMS oraz 55 chorych na SPMS, grupę kontrolną stanowiło 55 ochotników bez chorób układu nerwowego oraz zaburzeń sercowo-naczyniowych. Doktorantka wraz ze współbadaczami udowodnili, że PLAs jest istotnym, dotąd niedoszacowanym elementem patofizjologii SM. Rola Doktorantki w tym eksperymencie badawczym, jak wynika z załączonych oświadczeń autorów, była wiodąca. Mgr Karina Wasilewska była współtwórczynią koncepcji badania, przygotowywała materiał do analiz, przeprowadzała zaplanowane badania laboratoryjne, uczestniczyła w analizie statystycznej wyników badań, ich interpretacji i wizualizacji, przygotowaniu manuskryptu oraz pełnieniu funkcji autora korespondencyjnego.

Wyniki przeprowadzonych badań zaprezentowane w drugiej publikacji doświadczalnej włączonej do cyklu dysertacji zatytułowanej „In-Depth Characterization of L1CAM+ Extracellular Vesicles as Potential Biomarkers for Anti-CD20 Therapy Response in Relapsing–Remitting Multiple Sclerosis” wskazują, że pęcherzyki L1CAM+ EVs w surowicy mogą stanowić obiecujący biomarker odpowiedzi na leczenie rytuksymabem w RRMS. W badaniu, którego efektem jest ta publikacja Doktorantka odpowiadała za przegląd literatury dotyczącej przedmiotu doświadczenia, współtworzyła protokół analizy materiału biologicznego i pozyskiwania danych, brała udział w przygotowaniu analizy statystycznej i interpretacji wyników, współuczestniczyła w przygotowaniu manuskryptu. Mimo iż rola Doktorantki w tym doświadczeniu nie była wiodąca, to wykonane przez nią zadania miały istotne znaczenie dla przeprowadzenia eksperymentu i powstania pracy, a uzyskane wyniki i płynące z nich wnioski mogą mieć istotne znaczenie praktyczne dla oceny odpowiedzi na leczenie rytuksymabem.

W manuskrypcie wysłanym do publikacji pt. "Extracellular vesicle-derived miR-760 as a novel candidate marker differentiating stable RRMS from SPMS" Doktorantka wraz ze współbadaczami wykazali, że komponent miRNA może dostarczać informacji uzupełniających wobec profilu

markerów białkowych we krwi, tworząc przesłanki do budowy prostych algorytmów stratyfikacyjnych dla RRMS i SPMS. Rola Doktorantki w tym eksperymencie i przygotowaniu publikacji polegała na współplanowaniu metodyki prac doświadczalnych, przeprowadzeniu preparatyki części materiału biologicznego, wykonaniu zaplanowanych badań laboratoryjnych, interpretacji i wizualizacji wyników; współudziale w przygotowaniu podstawowej wersji manuskryptu; edycji tekstu manuskryptu oraz pełnieniu funkcji autora korespondencyjnego, co wskazuje na wiodącą rolę Doktorantki w przygotowaniu i przeprowadzeniu tego badania włącznie z przygotowaniem manuskryptu.

Mgr Karina Wasilewska rzetelnie podsumowała wyniki wszystkich przeprowadzonych badań, z których wyciągnęła sześć trafnych i jednoznacznych wniosków o dużym znaczeniu poznawczym i praktycznym.

Oceniając łącznie rolę i zaangażowanie Doktorantki w przedstawionych w niniejszej dysertacji badaniach uważam, że Doktorantka posiada bardzo dużą wiedzę teoretyczną odnośnie badanego tematu, potrafiła zaplanować przebieg doświadczenia, postawiać cele, dobrać stosowane metody analityczne i statystyczne, odnieść wyniki badań własnych do badań innych badaczy, wyciągać wnioski na z przeprowadzonych badań i co jest niezmiernie istotne w dyscyplinie nauki biologiczne, potrafi pracować w zespole. Warty podkreślenia jest fakt, że Doktorantka wykazała się znajomością i umiejętnością stosowania wielu metod badawczych laboratoryjnych, jak również wykazuje się umiejętnością trafnego podsumowania wyników przeprowadzonych eksperymentów.

Dobór piśmiennictwa

Piśmiennictwo wykorzystane w publikacjach, jak i w treści rozprawy opisującej przeprowadzone badania jest aktualne, dobrze dobrane, pochodzi głównie z czasopism ze współczynnikiem wpływu IF.

Uwaga techniczna: w opisie piśmiennictwa jest pewna niejednorodność: w niektórych pozycjach są skróty nazw czasopism, co obecnie jest standardem, a części są pełne nazwy (poz. 2, 3, 7, 10, 11, 13, 15, 16, 18, 23, 27, 28)

Podsumowanie

Przedłożona do oceny rozprawa doktorska jest dziełem oryginalnym, została przygotowana na wysokim poziomie naukowym, zastosowana metodologia świadczy o bardzo dobrym warsztacie

naukowym Doktorantki. Przeprowadzone badania były przemyślane, dobrze zaprojektowane, wpisują się w obecnie trendy poszukiwania biomarkerów w chorobach neurologicznych. Mogą przyczynić do opracowania metod lepszego monitorowania przebiegu leczenia. Rozprawa ta istotnie poszerza wiedzę na temat udziału kompleksów płytkowo-leukocytarnych w naczyniopochodnym aspekcie patogenezy SM, wypełnia lukę badawczą w obszarze identyfikacji nieinwazyjnych markerów w SM, które pozwalają na identyfikację fenotypów choroby, jak również dowodzi, że L1CAM⁺ EVs mogą stanowić dynamiczny, nieinwazyjny biomarker służący do monitorowania odpowiedzi na leczenie anty-CD20 u pacjentów z postacią rzutowo-remisyjną SM.

Wniosek końcowy

Przedstawiona do oceny rozprawa doktorska mgr Kariny Wasilewskiej spełnia warunki określone w art. 187 ustawy z dnia 20 lipca 2018 Prawo o Szkolnictwie Wyższym i Nauce (tj. DZ U. z 2021, poz. 478 ze zm). W związku z powyższym wnoszę do Komisji ds. Stopni Naukowych dziedzinie nauk ścisłych i przyrodniczych w dyscyplinie nauki biologiczne Uniwersytetu Łódzkiego o dopuszczenie mgr Kariny Wasilewskiej do dalszych etapów postępowania doktorskiego.

Wniosek o wyróżnienie rozprawy doktorskiej

Ze względu na bardzo wysoki poziom merytoryczny pracy, wartość poznawczą i aplikacyjną przedstawionych badań wnoszę o wyróżnienie przedłożonej do oceny dysertacji. Autorka podjęła się realizacji tematu dotyczącego pogłębienia wiedzy na temat patofizjologii najczęstszej choroby demielinizacyjnej jaką jest SM. Rozprawa doktorska dowodzi, że Doktorantka była zaangażowana na każdym etapie tworzenia tej dysertacji: od współtworzenia koncepcji badania, poprzez przygotowanie materiału biologicznego do analiz i ich przeprowadzenie aż do przygotowania publikacji. Prowadzone badania wymagały doskonałej znajomości nowoczesnych metod badań laboratoryjnych, a liczba wykonanych analiz jest imponująca. Dowodem potwierdzającym wysoki poziom naukowy dysertacji są publikacje wchodzące w skład cyklu, które zostały wydane w dobrze punktowanych czasopismach naukowych o zasięgu międzynarodowym.

Recenzję wykonała i podpisała

Prof. dr hab. n. med. i n. o zdr. Iwona Rotter