

Prof. dr hab. Stanisław Okrasa
Katedra Anatomii i Fizjologii Zwierząt
Wydział Biologii i Biotechnologii
UWM w Olsztynie
10-719 OLSZTYN
ul. Oczapowskiego 1A

**Ocena rozprawy doktorskiej mgr Karoliny Przepiórskiej-Drońskiej
pt.: "Identyfikacja molekularnych mechanizmów działania amorfrutyny B
komórkowych modelach hipoksyjno-ischemicznych uszkodzeń mózgu: badania
z wykorzystaniem pierwotnych hodowli mysich neuronów i ludzkiej linii mikrogleju"**

OGÓLNA CHARAKTERYSTYKA ROZPRAWY DOKTORSKIEJ

Przedstawiona do oceny praca doktorska **Pani mgr Karoliny Przepiórskiej-Drońskiej** została wykonana w Zakładzie Farmakologii Uzależnień w Pracowni Neurofarmakologii i Epigenetyki Instytutu Farmakologii Polskiej Akademii Nauk im. Jerzego Maja w Krakowie, pod kierunkiem prof. dr hab. Małgorzaty Kajty oraz dr hab. Agnieszki Wnuk w roli promotora pomocniczego. Na rozprawę doktorską składają się trzy – niżej wymienione – prace oryginalne, opublikowane w języku angielskim w wysoko notowanych czasopismach naukowych.

1. Wnuk A, **Przepiórska K**, Pietrzak BA, Kajta M. *Biomedicines. Post-Treatment with Amorfrutin B Evokes PPAR γ -mediated Neuroprotection against Hypoxia and Ischemia.* *Biomedicines.* 2021; 9: 854.
IF₂₀₂₁ = 4,757; IF_{5-letni} = 4,1; MNiSW = 100
2. **Przepiórska K**, Wnuk A, Beyer C, Kajta M. *Amorfrutin B Protects Mouse Brain Neurons from Hypoxia/Ischemia by Inhibiting Apoptosis and Autophagy Processes Through Gene Methylation- and miRNA-dependent Regulation.* *Mol Neurobiol.* 2023, 60: 576-595.
IF₂₀₂₃ = 4,6; IF_{5-letni} = 4,7; MNiSW = 100
3. **Przepiórska-Drońska K**, Wnuk A, Pietrzak-Wawrzyńska BA, Łach A, Biernat W, Wójtowicz AK, Kajta M. *Amorfrutin B Compromises Hypoxia/Ischemia-induced Activation of Human Microglia in a PPAR γ -dependent Manner: Effects on Inflammation, Proliferation Potential, and Mitochondrial Status.* *J Neuroimmune Pharmacol.* 2024; 19: 34.
IF₂₀₂₃ = 5,2; IF_{5-letni} = 5,2; MNiSW = 100

Publikacja wymieniona w pozycji 1 posiada dwóch równorzędnych, pierwszych autorów (tj. dr hab. Agnieszka Wnuk i mgr Karolinę Przepiórską), przy czym pewna część eksperymentów w niej prezentowanych została wcześniej wykorzystana w rozprawie habilitacyjnej dr hab. Agnieszki Wnuk, natomiast wyniki pozostałych doświadczeń wykorzystano w niniejszej rozprawie doktorskiej, które przedstawiono w formie opisowej. W dwóch kolejnych publikacjach Doktorantka jest pierwszym autorem. We wszystkich publikacjach wchodzących w skład rozprawy funkcję autora korespondującego pełniła Pani Promotor, prof. dr hab. Małgorzata Kajta. Rozprawa doktorska mgr Karoliny Przepiórskiej-Drońskiej, oprócz kopii publikacji (2 i 3), zawiera *Autoreferat* obejmujący 111 stron, w którym przedstawiono: listę prac stanowiących podstawę rozprawy doktorskiej, wykaz używanych skrótów, a następnie – *Wstęp*, *Hipotezę badawczą* i *Cel badań*, schematy przedstawiające przebieg przeprowadzonych doświadczeń, oraz *Dyskusję*. W *Autoreferacie* również zamieszczono: *Podsumowanie*, *Wnioski*, a także ogólnie sformułowane *Wnioski*

końcowe (ilustrowane zbiorczym schematem), *Streszczenia* w języku polskim i angielskim oraz *Bibliografię*, zawierającą 222 pozycje cytowanego piśmiennictwa. Załączona dokumentacja ponadto zawiera oświadczenia mgr Karoliny Przepiórskiej-Drońskiej i Współautorów, wskazujące na wysoki udział Doktorantki w przeprowadzeniu badań i opracowaniu wyników oraz przygotowaniu manuskryptów i odpowiedzi na uwagi recenzentów. Badania przedstawione w rozprawie doktorskiej były finansowane przez NCN w ramach projektu OPUS – 16 (Nr 2018/31/B/NZ7/01815).

MERYTORYCZNA ANALIZA ROZPRAWY DOKTORSKIEJ

Udar niedokrwienny mózgu stanowi poważny problem cywilizacyjny, gdyż wiąże się z nim wysoka śmiertelność oraz częste występowanie niepełnosprawności po jego przebyciu. Towarzysząca mu ischemia, polegająca na zaburzeniu dostarczania tlenu i glukozy, w efekcie prowadząca do uruchomienia patofizjologicznych reakcji, które są przyczyną śmierci komórek mózgowych. Innym zaburzeniem, o podobnym podłożu, jest niedotlenienie okołoporodowe (tzw. asfiksja okołoporodowa), które stwarza zagrożenie wystąpienia trwałego uszkodzenia mózgu i zaburzeń neurorozwojowych, a także pogorszenia funkcjonowania różnych narządów. Powyższe schorzenia – ze względu na wywoływane skutki – ciągle skłaniają badaczy do doskonalenia procedur terapeutycznych stosowanych w przypadku ich wystąpienia. Badania podjęte przez mgr Karolinę Przepiórską-Drońską w ramach pracy doktorskiej doskonale wpisują się w takie – niezwykle ważne z medycznego punktu widzenia – zapotrzebowanie.

Wstęp, zajmujący 18 stron maszynopisu, Doktorantka rozpoczyna od przedstawienia najważniejszych informacji dotyczących patofizjologii i leczenia udaru niedokrwiennego mózgu oraz asfiksji okołoporodowej. Powołując się na dane z piśmiennictwa, zwraca uwagę na główne mechanizmy odpowiedzi komórkowej na uszkodzenie tkanki mózgowej wywołane przez deficyty tlenu i substancji odżywczych, które m.in. obejmują ekscytotoksyczność, zaburzenia integralności mitochondriów, autofagię, apoptozę, wytwarzanie reaktywnych form tlenu i stres oksydacyjny oraz aktywację układu immunologicznego i przewlekłą odpowiedź zapalną. Eksponuje również istotę terapii kierowanej na uszkodzenia hipoksyjno-ischemiczne, która powinna skupiać się na hamowaniu procesów przyczyniających się do śmierci komórek mózgowych we wczesnej fazie odpowiedzi, jak i na stymulowaniu regeneracji tkanki i naczyń krwionośnych w późniejszej jej fazie. Następnie, Doktorantka szczegółowiej rozpatruje procesy apoptozy i autofagii, reakcję zapalną, stres oksydacyjny oraz zmiany epigenetyczne w kontekście udaru niedokrwiennego mózgu. Końcowe podrozdziały *Wstępu* są poświęcone charakterystyce receptora aktywowanego przez proliferatory peroksydomów typu *gamma* (PPAR γ). Doktorantka podkreśla szeroki zakres działania tego receptora, m.in. obejmujący regulację metabolizmu lipidów i glukozy, utrzymanie homeostazy w zakresie wielu procesów komórkowych (takich jak: proliferacja i różnicowanie komórek, wytwarzanie czynników troficznych oraz równowaga oksydacyjno-redukcyjna), a także udział w hamowaniu szlaków prz zapalnych zależnych od NF- κ B i AP-1.

Wcześniejsze badania wykazały również neuroprotektoryjne działanie agonistów receptorów PPAR γ . W układzie nerwowym udokumentowano udział receptorów PPAR γ w kontrolowaniu szlaków transkrypcyjnych m.in. związanych z plastycznością neuronalną

(Wnt-katenina), odpowiedzią na stres oksydacyjny (NRF2) oraz z rozwojem stanu zapalnego (NF- κ B i JAK-STAT). Jednakże przeszkodą w stosowaniu klasycznych ligandów tych receptorów (np. z grupy TZD: troglitazonu, rozyglitazonu lub pioglitazonu) w celach terapeutycznych okazały się być niekorzystne skutki uboczne ich działania. W celu uniknięcia tych efektów rozpoczęto poszukiwania substancji selektywnie modulujących receptor PPAR γ (SPPAR γ M), które w sposób specyficzny indukują zmianę jego konformacji, od której zależy wiązanie określonych kofaktorów i w konsekwencji – ekspresja docelowych genów. W badaniach dotyczących chorób metabolicznych wykazano, że amorfrutyna B – wyizolowana z owoców amorfy krzewiastej – jest związkiem z grupy polifenoli, który selektywnie aktywuje PPAR γ i wywołuje ekspresję podzbioru genów związanych z metabolizmem glukozy i lipidów oraz stanem zapalnym, nie powodując wystąpienia niepożądanych skutków ubocznych stwierdzanych w przypadku stosowania związków z grupy TZD. Podsumowując dane z piśmiennictwa dotyczące amorfrutyny B, Doktorantka stwierdza, że jest ona substancją, która wymaga przebadania pod kątem działania neuroprotekcijnego w modelach neurodegeneracji, w tym w modelach udaru niedokrwinnego mózgu oraz niedotlenienia okołoporodowego. W oparciu o dane z piśmiennictwa, Doktorantka formułuje hipotezę badawczą, w której zakłada, że:

- amorfrutyna B chroni komórki nerwowe myszy przed uszkodzeniem wywołanym hipoksją oraz ischemią poprzez zahamowanie stresu oksydacyjnego i zmianę statusu epigenetycznego neuronów, przy udziale ścieżki sygnałowej angażującej receptor PPAR γ ;
- mechanizm neuroprotekcijnego działania amorfrutyny B obejmuje hamowanie apoptozy i autofagii oraz regulację profilu ekspresji szeregu miRNA;
- amorfrutyna B hamuje wywołaną hipoksją oraz ischemią aktywację ludzkiego mikrogleju, głównie poprzez wyciszenie procesów zapalnych, hamowanie potencjału proliferacyjnego i stabilizowanie aktywności metabolicznej komórek.

Na podkreślenie zasługuje starannie pod względem merytorycznym opracowany *Wstęp*, który stanowi bardzo dobre wprowadzenie do problematyki podjętej w rozprawie doktorskiej i zawiera przekonujące uzasadnienie przyjętej hipotezy badawczej. Wyznaczone przez Doktorantkę cele pracy zostały ujęte w formie kilku punktów podejmujących:

- opracowanie modeli niedotlenienia i niedokrwienia mózgu;
- określenie neuroprotekcyjnych właściwości amorfrutyny B oraz zaangażowania szlaku sygnałowego PPAR γ w jej działanie w neuronach poddanych hipoksji oraz ischemii;
- identyfikację molekularnych mechanizmów działania amorfrutyny B w kontekście stresu oksydacyjnego, procesów apoptozy i autofagii oraz statusu epigenetycznego mysich neuronów;
- określenie wpływu amorfrutyny B na wywołaną hipoksją/ischemią aktywację komórek ludzkiego mikrogleju.

Przedstawione cele rozprawy doktorskiej określają główne kierunki weryfikacji przyjętej hipotezy badawczej. Badania przeprowadzono stosując dwie procedury doświadczalne; w pierwszej wykorzystano embrionalne kultury mysich komórek nerwowych (pozyskanych od szczepu SwissAlbino CD-1), a w drugiej – linię komórkową ludzkiego

mikrogleju (HMC3). Przebieg doświadczeń przeprowadzonych według tych procedur przejrzysto ilustrują zamieszczone w pracy schematy. W ramach powyższych procedur doświadczalnych realizowano dwa modele badawcze; jeden odnoszący się do niedotlenienia mózgu (hipoksji), a drugi – do jego niedokrwienia (ischemii).

Mocną stroną badań przedstawionych w rozprawie doktorskiej mgr Karoliny Przepiórskiej-Drońskiej jest wykonanie bardzo szerokiego zakresu różnych analiz z zastosowaniem bardzo wielu technik badawczych, w tym także bardzo zaawansowanych. W celu potwierdzenia powyższej opinii pozwolę sobie je wymienić poniżej:

- pomiar aktywności kaspazy 1, oznaczanie dehydrogenazy mleczanowej (LDH), błonowego potencjału mitochondrialnego (JC-10) i poziomu reaktywnych form tlenu (ROS) w komórkach, wizualizacja żywych komórek i jąder komórkowych (Hoechst 33342 i kalceiny AM) oraz autofagolizosomów i skupisk heterochromatyny (CYTO-ID i Hoechst 33342), pomiary żywotności komórek z użyciem reagentu AlamarBlue, określanie poziomu neurodegeneracji neuronów z użyciem fluoroscencyjnego barwnika Fluoro-Jade C, wizualizacja komórek mikrogleju w oparciu o immunofluorescencyjną detekcję markera IBA1 oraz określanie ich potencjału proliferacyjnego przy pomocy testu inkorporacji bromodeoksyurydyny (BrdU) do jądrowego DNA, barwienie immunofluorescencyjne PPAR γ i MAP2, oznaczanie poziomu 8-hydrokwy-2'-deoksyguanozyny (8-OHdG) w celu określenia stopnia uszkodzenia oksydacyjnego DNA/RNA;
- ilościowa analiza qPCR ekspresji wielu genów: w tym genów *Pparg*, *Hif1a*, *Pgc1a*, *Adipoq*, genów powiązanych z apoptozą i autofagią (odpowiednio: *Fas*, *Fasl*, *Bcl2*, *Bax*, *Gsk3b* oraz *Becn1*, *Atg5*, *Atg7*, *Map1lc3a*, *Map1lc3b*, *Nup62*, *Ambra1*), a także genów powiązanych ze stanem zapalnym (*IL1B*, *IL10*, *TNFA*);
- oznaczanie przy pomocy qPCR-MethyLight poziomu metylacji genów związanych z apoptozą i autofagią (odpowiednio: *Bcl2*, *Bax* oraz *Becn1*, *Atg7*, *Map1lc3b*, *Ambra1*);
- analiza qPCR ekspresji miRNA związanych z apoptozą z wykorzystaniem mikromacierzy;
- wyciszanie genu *Pparg* oraz genów powiązanych z autofagią (*Becn1* i *Atg7*) przy pomocy specyficznych małych interferujących RNA (siRNA);
- oznaczanie białek PPAR γ i HIF1 α przy pomocy analizy Western-blot;
- oznaczanie przy użyciu testów immunoenzymatycznych ELISA białek PPAR γ , PGC1 α i ADIPOQ, białek powiązanych z procesami apoptozy i autofagii (odpowiednio: FAS, FASL, BCL2, BAX, GSK3 β oraz BECN1, ATG7, MAP1LC3B, AMBRA1) oraz ze stanem zapalnym (IL1 β , IL10);
- pomiar poziomu enzymów odpowiedzialnych za modyfikacje epigenetyczne: acetylotransferazy histonowej (HAT) i deacetylazy histonowej (HDAC) oraz sirtuin, należących do enzymów z grupy HDAC.

Należy dodać, że dosyć szczegółowy opis wymienionych powyżej technik badawczych znajduje się w części opisowej rozprawy doktorskiej oraz w załączonych publikacjach. Moim zdaniem, zastosowanie w badaniach adekwatnych układów doświadczalnych oraz różnorodnych technik badawczych dobrze służyło jak najpełniejszemu poznaniu mechanizmu

oddziaływania amorfutyiny B na zmiany neurodegeneracyjne wywoływane stanami hipoksji/ischemii.

Wyniki badań przeprowadzonych przez mgr Karolinę Przepiórską-Drońską w ramach rozprawy doktorskiej zostały zaprezentowane w trzech pracach opublikowanych w latach 2021-2024 w wysoko notowanych czasopismach naukowych, takich jak: *Biomedicines*, *Molecular Neurobiology* oraz *Journal of Neuroimmune Pharmacology*. Dowodzi to, że spełniły one wysokie wymagania redakcji tych czasopism i uzyskały pozytywne opinie recenzentów wydawniczych. Badania Doktorantki dostarczyły wiele wartościowych wyników, dotyczących potencjalnej przydatności amorfutyiny B w łagodzeniu neurodegeneracyjnych zmian w mózgu zachodzących pod wpływem hipoksji i ischemii. Najważniejsze efekty tych badań można ująć w sposób uogólniony w kilku punktach.

1. Amorfutyina B, działając za pośrednictwem PPAR γ , chroni komórki nerwowe przed skutkami hipoksji i ischemii poprzez hamowanie stresu oksydacyjnego i zależnych od wolnych rodników uszkodzeń DNA/RNA. Za takim działaniem amorfutyiny B przemawia: 1) wzrost ekspresji *Pparg*/PPAR γ w komórkach nerwowych pod jej wpływem oraz 2) ustąpienie efektów jej działania po wyciszeniu ekspresji tego receptora przy użyciu specyficznego siRNA. Ponadto wykazano, że amorfutyina B normalizuje status epigenetyczny neuronów narażonych na hipoksję i ischemię.
2. Amorfutyina B hamuje apoptozę komórek nerwowych indukowaną przez hipoksję i ischemię, co uwidacznia się w postaci poprawy funkcji mitochondriów, ograniczenia powstawania skupisk heterochromatyny oraz zmniejszenia ekspresji czynników proapoptycznych. Przedstawione wyniki badań wskazują, iż u podłoża powyższych następstw działania amorfutyiny B m.in. leżą wywołane przez nią zmiany poziomu metylacji obszarów promotorowych genów związanych z apoptozą i autofagią oraz jej działanie normalizujące ekspresję wielu form miRNA, uznawanych za markery udaru mózgu.
3. Amorfutyina B wpływa także na komórki mikrogleju w sposób zależny od PPAR γ , hamując ich aktywację zachodzącą w warunkach hipoksji i ischemii poprzez zmianę fenotypu z prozapalnego „M1” na przeciwzapalny „M2”, hamowanie reakcji zapalnej, a także zmniejszenie ich potencjału proliferacyjnego, kontrolę aktywności metabolicznej oraz normalizację statusu mitochondrialnego.

Poza ewidentnymi, o dużym znaczeniu merytorycznym, ustaleniami dotyczącymi neuroprotekcijnego potencjału amorfutyiny B, interesujące są także – stwierdzone przez Doktorantkę – różnice w oddziaływaniu amorfutyiny B na komórki nerwowe narażone na hipoksję lub ischemię. Takie obserwacje mogą być również przyczynkiem do podjęcia dalszych badań wyjaśniających.

Doktorantka dokonała wnikliwej analizy uzyskanych wyników w autorskim opracowaniu oraz w załączonych publikacjach. W toku dyskusji zamieszczonej w *Autoreferacie*, w sposób uzasadniony eksponuje. Ona dokonane po raz pierwszy ustalenia dotyczące neuroprotekcyjnych właściwości amorfutyiny B. Z kolei, w części podsumowującej własne badania, przedstawia syntetyczne zestawienie uzyskanych wyników przyporządkowując je do przyjętych hipotez badawczych.

Na podstawie przeprowadzonych badań, Doktorantka przedstawia 5 klarownie sformułowanych wniosków, które odnoszą się do: 1) zastosowanych modeli badawczych, 2) działania amorfrutyny B za pośrednictwem receptora PPAR γ , 3) mechanizmu neuroprotekcijnego działania amorfrutyny B, 4) odpowiedzi komórek mikrogleju na warunki hipoksyjno-ischemiczne oraz 5) modulującego oddziaływania amorfrutyny B na komórki mikrogleju narażone na hipoksję i ischemię. We wnioskach końcowych, Doktorantka m.in. stwierdza, że wykazane przez nią neuroprotekcyjne i przeciwzapalne właściwości amorfrutyny B stanowią silną przesłankę do wykorzystania tej substancji przy opracowywaniu nowych farmakoterapii udaru mózgu.

Podsumowując badania przedstawione w rozprawie doktorskiej mgr Karoliny Przepiórskiej-Drońskiej, należy wysoko ocenić ich dużą wartość poznawczą, na którą składa się określenie mechanizmów oddziaływania amorfrutyny B za pośrednictwem receptorów PPAR γ na neurony i komórki mikroglejowe, jak również wyjaśnienie, iż jej neuroprotekcyjne działanie zachodzi poprzez hamowanie stresu oksydacyjnego, apoptozy i autofagii oraz osłabienie procesów zapalnych w wyniku hamowania przez nią aktywacji mikrogleju. Wyniki tych badań zostały opublikowane w wysoko notowanych czasopismach naukowych, których łączny współczynnik oddziaływania IF wynosi 14,557 (za okres 5-letni IF=14,00), a punktacja wg MNiSW – 300. Poszczególne publikacje oraz całościowe podsumowanie badań przedstawionych w rozprawie pozwalają stwierdzić, że Doktorantka w pełni zrealizowała wcześniej wyznaczone cele badawcze.

UWAGI i PYTANIA

Publikacje wchodzące w skład rozprawy doktorskiej mgr Karoliny Przepiórskiej-Drońskiej były wcześniej zaakceptowane przez redakcje renomowanych czasopism naukowych na podstawie pozytywnych opinii recenzentów wydawniczych i nie budzą moich zastrzeżeń. Pozwolę sobie jednak na kilka pytań dotyczących autoreferatu, przeprowadzonych badań oraz problematyki podjętej w rozprawie doktorskiej.

1. Na rycinie 5 (zamieszczonej w części opisowej rozprawy), dotyczącej wpływu amorfrutyny B na status epigenetyczny komórek nerwowych, wyniki odnoszące się do deacetylazy histonowej i sirtuin przedstawiono jako wartości średnie \pm SEM, natomiast wyniki odnoszące się acetylotransferazy histonowej – jako procent kontroli \pm SEM. Z czego wynika różnica w sposobie prezentacji tych wyników? Podpis pod tą ryciną mógłby także uwzględnić wyjaśnienie dotyczące niższych słupków prezentujących zmiany poziomu sirtuin po dodatkowym zastosowaniu trichostatyny A. Na szczęście takie wyjaśnienie znajduje się w tekście.
2. W analizach ekspresji genów metodą qPCR wykonanych w mysich komórkach nerwowych używała Pani jako genu referencyjnego *Hprt*, natomiast w przypadku linii komórkowej ludzkiego mikrogleju – genem referencyjnym był gen *ACTB*. Czym kierowano się dokonując wyboru tych genów referencyjnych do przeprowadzonych analiz? Generalnie, za główne kryterium wyboru genu referencyjnego w tego typu badaniach przyjmuje się jak najwyższą stabilność jego ekspresji.
3. Badania przedstawione w Pani rozprawie doktorskiej miały na celu określenie neuroprotekcyjnych właściwości amorfrutyny B, która jest selektywnym modulatorem receptora PPAR γ . Wychodząc nieco poza ten temat, chciałbym Panią zapytać o inne

receptory komórkowe (np. mER, AhR), które potencjalnie mogą być zaangażowane w procesy związane z neuroprotekcją lub z neurodegeneracją. W pytaniu tym, chodzi mi o szersze Pani spojrzenie na ten temat możliwości neuroprotektynowego działania innych związków.

PODSUMOWANIE

Rozprawa doktorska mgr Karoliny Przepiórskiej-Drońskiej dotyczy aktualnego i bardzo ważnego problemu medycznego, który stwarza stosunkowo wysoka częstotliwość występowania udaru mózgu i okołoporodowego niedotlenienia oraz poważne konsekwencje zdrowotne powodowane przez niedotleniowo-niedokrwiennie uszkodzenie mózgu. Badania przedstawione w ocenianej pracy doktorskiej wykazały neuroprotektynowe właściwości amorfrutyny B oraz udział receptorów PPAR γ w jej działaniu. Wykorzystanie różnorodnych procedur i zawansowanych metod badawczych pozwoliło Doktorantce wskazać molekularne mechanizmy działania amorfrutyny B w odniesieniu do stresu oksydacyjnego, procesów apoptozy i autofagii oraz statusu epigenetycznego mysich neuronów, a także określić wpływ amorfrutyny B na komórki ludzkiego mikrogleju w warunkach hipoksji lub ischemii. Wyniki tych badań opublikowano w wysoko notowanych czasopismach naukowych. Przedstawione przez Doktorantkę wyniki badań stanowią także bardzo dobry punkt wyjścia do podjęcia dalszych badań nad wykorzystaniem amorfrutyny B do opracowania nowych farmakoterapii udaru mózgu. Z pełnym przekonaniem mogę stwierdzić, że przedstawiona do oceny praca doktorska prezentuje wysoki poziom naukowy, a Doktorantka wykazała się w niej bardzo dobrym opanowaniem warsztatu badawczego i dobrą znajomością piśmiennictwa z zakresu tematyki prowadzonych badań. Ponadto, Doktorantka – poza trzema publikacjami stanowiącymi rozprawę doktorską – ma znaczący dorobek publikacyjny, który obejmuje 8 prac oryginalnych i jedną pracę przeglądową, które zostały opublikowane w czasopismach o zasięgu międzynarodowym.

WNIOSEK KOŃCOWY

W zakończeniu pragnę stwierdzić, że przedstawiona do oceny rozprawa zatytułowana **”Identyfikacja molekularnych mechanizmów działania amorfrutyny B w komórkowych modelach hipoksyjno-ischemicznych uszkodzeń mózgu: badania z wykorzystaniem pierwotnych hodowli mysich neuronów i ludzkiej linii mikrogleju”** spełnia wszystkie wymagania – określone w Ustawie z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (tj. Dz.U. 2023, poz. 742 z późniejszymi zmianami) – stawiane rozprawom doktorskim i w związku z powyższym zwracam się do Rady Naukowej Instytutu Farmakologii PAN w Krakowie z wnioskiem o dopuszczenie mgr Karoliny Przepiórskiej-Drońskiej do dalszych etapów postępowania w sprawie nadania stopnia doktora w dziedzinie nauk medycznych i nauk o zdrowiu, dyscyplinie nauki medyczne.

Równocześnie, ze względu na szeroki zakres przeprowadzonych badań i ich nowatorski charakter oraz wysoki poziom naukowy, przedkładam Wysokiej Radzie wniosek o wyróżnienie rozprawy doktorskiej mgr Karoliny Przepiórskiej-Drońskiej.

S. Okrasa

Olsztyn 15.12.2024 r.

Stanisław Okrasa

