

Katedra i Zakład
Biochemii WNMK

40-752, Katowice
ul. Medyków 18
www.sum.edu.pl

Kierownik Katedry
Prof. dr hab. n. med. i n. o zdr.
Tomasz Francuz

tel.: (+48 32) 252-50-88
fax: (+48 32) 252-50-88

SEKRETARIAT

tel.: (+48 32) 252-50-88

fax: (+48 32) 252-50-88
biochemia@sum.edu.pl

Recenzja rozprawy doktorskiej

pt. „Significance of the molecular profile of extracellular vesicles from plasma and peritoneal fluid in the development of endometriosis”

mgr inż. Karolina Magdalena Soroczyńska wykonanej pod kierunkiem

dr hab. n. med. n. o zdr. Małgorzata Czystowska-Kuźmicz

w Katedrze i Zakładzie Biochemii Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego

Endometrioza jest istotnym problemem medycznym, dotyczącym miliony kobiet na całym świecie., przede wszystkim w wieku rozrodczym. Towarzyszące jej dolegliwości bólowe, problemy z płodnością i dyskomfort stanowią ważne czynniki pogarszające komfort życia kobiet dotkniętych tą chorobą. Stąd też znaczenie endometriozy wynika nie tylko z częstości jej występowania ale także wpływu na życie kobiety związane z ograniczeniem codziennego funkcjonowania i ograniczeniem aktywności zawodowej. Problemy te są pogłębiane przez trudności diagnostyczne, skutkujące postawieniem właściwego rozpoznania często z wieloletnim opóźnieniem. Występujące problemy często są mylone z innymi chorobami, w efekcie szereg pacjentek pozostaje niezdiagnozowanych lub otrzymuje niewłaściwe leczenie.

Wstęp przedstawia patomechanizmy rozwoju endometriozy, w skrócie omawiając poszczególne teorie związane z rozwojem tej choroby. Chciałbym podkreślić, że praca pod względem edycyjnym jest przygotowana bardzo starannie, a w wielu miejscach, rozdziały są ilustrowane wysokiej jakości, bardzo dobrze i w sposób przemyślany stworzonymi rycinami, które zawierają podsumowanie informacji przedstawionych we wprowadzeniu.

W podrozdziale „Diagnostic challenges and the need for biomarkers in endometriosis” autorka przedstawia współczesne wyzwania diagnostyczne związane z rozpoznaniem endometriozy, które mają związek z opóźnieniem postawienia właściwej diagnozy u części pacjentek, a co za tym idzie większym stopniem zaawansowania choroby i opóźnieniem wdrożenia właściwego leczenia. W tej części zabrakło nieco pogłębionej analizy klinicznej stosowanych metod diagnostycznych oraz podania parametrów statystycznych – czasu do postawienia diagnozy, czułości i specyficzności stosowanych metod. Pozwoliłoby to później na odniesienie uzyskanych przez doktorantkę wyników do aktualnie używanych metod diagnostycznych. Tu warto by było wspomnieć, że mimo iż endometrioza jest jednym z częstszych problemów ginekologicznych, dotyczącym nawet 10-15% kobiet, to nawet ponad połowa pacjentek ma ją rozpoznaną po 7 latach od wystąpienia objawów, a mniej niż 1/3 pacjentek ma postawioną diagnozę w okresie krótszym niż dwa lata. Za ten stan rzeczy odpowiada szereg czynników, powiązanie dolegliwości bólowych z innymi chorobami lub cyklem menstruacyjnym, nakładanie się objawów klinicznych z objawami innych chorób, niedoskonałość badań obrazowych i inne czynniki, co podsumowując stanowi uzasadnienie dla podjęcia badań mających na celu opracowanie nowych metod diagnostycznych, w tym metod wykorzystujących markery biochemiczne. W dalszej części rozdziału autorka szeroko omawia rodzaje, funkcje i mechanizmy działania różnych kategorii pęcherzyków zewnątrzkomórkowych (EV).

EV są niezwykle obiecującym obiektem badań, w których poszukuje się nowych markerów chorób. EV są odpowiedzialne za transport pomiędzy komórkami szeregu ważnych biomolekuł – kwasów nukleinowych, białek i lipidów, co stanowi ważny i unikatowy mechanizm komunikacji międzykomórkowej. EV stanowią bardzo interesujący obiekt badań, ze względu na to, że ich zawartość odzwierciedla bieżący stan metaboliczny komórki. Autorka szeroko opisuje rolę EV w przekazywaniu informacji pomiędzy komórkami oraz mechanizmy oddziaływania EV na komórki docelowe. Osobny podrozdział został poświęcony roli EV w żeńskim układzie rozrodczym. W tym podrozdziale została szeroko opisana rola EV w regulacji wzrostu i różnicowania komórek, wpływ na układ immunologiczny, remodeling oraz aktywację procesów zapalnych. Wszystkie informacje zostały poparte aktualną literaturą. Ta część pracy jest bardzo istotna, gdyż z przedstawionych informacji bezpośrednio wynika hipoteza badawcza jaką postawiła sobie autorka dysertacji. W kolejnej części przedstawiona została aktualna koncepcja tzw. płynnej biopsji oraz potencjalne możliwości diagnostyczne z nią związane. Płynna biopsja, jako metoda minimalnie inwazyjna, stwarza doskonałą okazję do przesiewowego badania markerów chorób, wytwarzanych w komórkach objętych patologiami. Daje to możliwość zarówno identyfikacji choroby u pacjentów bezobjawowych (badania przesiewowe), jak i wykorzystania tej metody do identyfikacji konkretnych biomarkerów chorób. Identyfikacja biomarkerów bezpośrednio w EV, które są uwalniane w miejscach objętych określoną patologią, stwarza nadzieję na polepszenie specyficzności danego biomarkera. Ponadto, sam materiał jest łatwy do pobrania, nie wymaga wykonania celowanej biopsji jak to ma miejsce w przypadku klasycznego badania histopatologicznego. Ważną cechą różnego typu EV jest stabilność zawartych z nich biomolekuł. Kwasy nukleinowe, w szczególności RNA, podlegają szybkiej hydrolizie poprzez powszechne w płynach biologicznych RNazy, podobne procesy obejmują degradację białek, co ogranicza możliwość ich bezpośredniego oznaczania w płynach biologicznych, a co za tym idzie ich wykorzystania jako biomarkerów chorób. Z kolei EV, otaczające swoją zawartość błoną lipidową, czynią przenoszone biomolekuły stabilnymi, dzięki ograniczeniu kontaktu z enzymami je degradującymi.

Niewielka inwazyjność związana z pobieraniem materiału do badań stwarza też ciekawą możliwość monitorowania zmian stężeń biomarkerów w czasie. Takie podejście może zwiększyć czułość diagnostyczną metody, ale daje także możliwość łatwego monitorowania przebiegu choroby w czasie. Biorąc pod uwagę powyższe, EV od kilkunastu lat są przedmiotem intensywnych badań, także w kontekście poszukiwań nowych biomarkerów endometriozy. Lecz ich ocena wykracza poza czystą diagnostykę – ponieważ zawierają one biomolekuły syntetyzowane w komórkach endometrium, ich analiza daje potencjalną możliwość wglądu w metabolizm tych komórek, inwazyjność, syntezę lub aktywację szlaków związanych z zapaleniem.

Badania nad rolą EV jako nośnika potencjalnie użytecznych biomarkerów chorób wspiera szybki rozwój technologii wielkoskalowych – spektrometrii mas oraz IFCM. Obie techniki umożliwiają ocenę EV w niespotykany dotychczas, komplementarny sposób. IFCM umożliwia określenie rozmiarów oraz obecności antygenów powierzchniowych na pęcherzykach, natomiast spektrometria mas umożliwia jednoczesną identyfikację nawet tysięcy, różnych, przenoszonych przez EV białek. W rezultacie dysponujemy potencjałem do kompleksowej oceny przenoszonych przez EV biomolekuł, z których być może część znajdzie zastosowanie diagnostyczne.

Bezpośrednim nawiązaniem do hipotezy badawczej jest rozdział „1.10. Biological rationale for studying EVs in plasma and PF” w którym zostały omówione potencjalne związki EV z endometriozą oraz nadzieje związane z analizą tych struktur. Została opisana rola i potencjalne korzyści z badania EV izolowanych z płynu otrzewnowego. Daje to możliwość oceny procesów patologicznych toczących się we wszczepach endometrium, a także odpowiedzi innych komórek, z tym komórek układu immunologicznego. W dalszej części zostały porównane zalety izolacji EV z płynu otrzewnowego i surowicy krwi. Ta końcowa część wstępu stanowi bezpośrednie przejście do kolejnego rozdziału, który został poświęcony celom badania.

Autorka przedstawionej mi do recenzji pracy, podjęła się niełatwego zadania poszukiwania nowych biomarkerów tej choroby, co w założeniu mogłoby przyspieszyć proces diagnostyczny i go ułatwić. W tym celu autorka w rozdziale 2.1 przedstawiła spójną hipotezę badawczą,

zakładając, że pęcherzyki pozakomórkowe (EV) i zawarte w nich białka mogą odzwierciedlać procesy patologiczne związane z rozwojem endometriozy. Stąd też ich analiza w osoczu krwi lub płynie z otrzewnej może dać doskonały wgląd w procesy zapalne, immunologiczne, remodeling i stres oksydacyjny towarzyszący rozwojowi endometriozy, co potencjalnie umożliwi identyfikację biomarkerów choroby. W tym celu autorka posłużyła się badaniami proteomicznymi o wysokiej rozdzielczości umożliwiającymi wstępną identyfikację celów białkowych, które mogą być wykorzystane jako biomarkery. Wychodząc z założenia, że tego typu analizy są kosztowne, a przede wszystkim cechują się ograniczoną dostępnością, doktorantka, podjęła się próby walidacji wykrytych biomarkerów za pomocą tańszych, bardziej dostępnych i rutynowo stosowanych metod laboratoryjnych.

Głównym celem badania była charakteryzacja i porównanie profili proteomicznych EV izolowanych z płynu otrzewnowego i osocza. Aby osiągnąć ten główny cel badania doktorantka sformułowała 6 celów szczegółowych, obejmujących izolację EV z płynu z otrzewnej oraz osocza, analizę proteomiczną w celu poszukiwania markerów endometriozy, w tym markerów progresji, wyszukanie białek mogących posłużyć jako markery, występujących zarówno w izolatach z otrzewnej, jak i z osocza i na koniec przeprowadzenie analizy pod kątem możliwości wykorzystania wybranych biomarkerów do opracowania nowego podejścia diagnostycznego związanego z nieinwazyjnymi metodami oceny z użyciem fenotypowania EV przy pomocy cytometrii.

Na przeprowadzenie badań autorka uzyskała zgodę Komisji Bioetycznej. W skład grupy badanej weszły próbki pobrane od 10 pacjentek z potwierdzoną histopatologicznie endometrią w stadium III i IV, natomiast grupę kontrolną stanowiło 16 pacjentek zdrowych. Od wszystkich pacjentek wyizolowano EV z osocza i płynu pobranego z otrzewnej. Autorka przedstawiła kryteria włączenia i wyłączenia z badania, które w mojej ocenie zostały dobrane poprawnie. Należy jednak zaznaczyć, że włączenie wąskich, wysoce homogenicznych grup pacjentek z jednej strony ułatwia analizę wyników badania i ogranicza wpływ czynników zakłócających na uzyskane rezultaty, lecz z drugiej strony, utrudnia translację wyników do praktyki klinicznej. W przypadku realizacji dalszych badań, mających na celu ustalenie przydatności diagnostycznej wykrytych biomarkerów, należałoby odpowiednio dobrać grupę kontrolną, tak, aby odzwierciedlała rzeczywisty profil pacjentek, wśród których diagnozuje się endometrię. Porównania grupy chorych vs. Zdrowi prowadzi do fałszywego zawyżania parametrów statystycznych użytych biomarkerów i w efekcie uznania, że markery, które w rzeczywistości nie mają dużej przydatności diagnostycznej, mają doskonałe właściwości dyskryminujące. Powyższa uwaga nie odnosi się bezpośrednio do recenzowanej pracy, która jest wczesną próbą identyfikacji potencjalnie użytecznych biomarkerów, lecz ma znaczenie na kolejnych etapach walidacji biomarkera.

Autorka nie opisała w jaki sposób szacowana była minimalna liczebność grup, czy odpowiednio 10 i 16 pacjentek, od których pozyskano materiał wynikało z wcześniejszej oceny statystycznej, czy była to po prostu liczba dostępnych próbek? Liczebność grupy badanej jest stosunkowo niewielka, łącznie próbki pobrano od zaledwie 10 pacjentek z endometrią w stopniu III lub IV. Przy czym do badania włączono tylko jedną pacjentkę z endometrią w stopniu IV. W mojej ocenie uniemożliwia to jakąkolwiek rzetelną ocenę wpływu stopnia zaawansowania choroby na obserwowany profil proteomiczny.

Wybranie pacjentek z endometrią w stopniu umiarkowanym lub ciężkim z pewnością wpłynęło na zwiększenie prawdopodobieństwa wykrycia potencjalnych markerów białkowych, lecz jednocześnie ograniczyło możliwości przeniesienia wyników do diagnostyki. Pacjentki z tak zaawansowaną endometrią zwykle mają charakterystyczne zmiany w badaniach obrazowych, co w pewnym stopniu ogranicza potrzebę wykonywania zaawansowanych badań proteomicznych. Z drugiej strony wykryte markery, które cechują się określoną swoistością i czułością w wyższych stadiach zaawansowania choroby, niekoniecznie muszą cechować się jakąkolwiek przydatnością u chorych z endometrią w stopniu I lub II. Oczywiście dobór chorych, biorąc pod uwagę liczebność grup oraz wstępny charakter badań jest uzasadniony, jednak w przyszłości uzyskane wyniki należałoby potwierdzić na szerszej grupie pacjentek. W załączonej tabeli 1 zawierającej charakterystykę pacjentek, należałoby dodać informacje o występujących

chorobach i przyczynach wykonania badania u kobiet z grupy kontrolnej. Powinna się w niej też znaleźć analiza statystyczna porównująca obie grupy pod względem braku różnic wskaźników antropometrycznych. Biorąc pod uwagę analizę EV, podanie informacji m.in. o BMI, ewentualnych chorobach współistniejących (cukrzyca, nadciśnienie) byłoby przydatne dla oceny wiarygodności uzyskanych wyników.

Badanie zostało wzbogacone o analizę dodatkowej grupy 15 próbek pozyskanych od pacjentek z endometriozą przed i 48h po operacji, jednak nie podano charakterystyki tej kohorty. Samo dodanie tej grupy umożliwia dodatkową ocenę zachowania się wykrytych biomarkerów w czasie, w sytuacji radykalnego zmniejszenia rozległości zmian endometrii w wyniku zabiegu.

W pracy użyte profile porównano także z profilami uzyskanymi z dwóch komercyjnych linii komórkowych - jednej linii komórkowej wyprowadzonej ze zmian endometrialnych oraz linii cechującej się zmianami przednowotworowymi. Jak wynika z dyskusji, powodem wyboru tych linii było ich powiązanie z endometriozą i rozwojem raka jajnika. Dołączenie do analizy EV izolowanych z tych linii komórkowych, umożliwia lepsze odniesienie profilu białek do profilu zależnego od tych komórek. Daje to możliwość interpretacji obserwowanych zmian w profilu ekspresji białek w EV w odniesieniu do wzorca jakim stanowi profil obserwowanych w tych liniach. Należy jednak pamiętać, że komercyjne linie komórkowe, cechujące się licznymi pasażami często tracą charakterystyczne cechy dla komórek pierwotnie wyizolowanych. Stąd też w przyszłości wydaje się celowe wzbogacenie tej analizy o analizę EV pozyskanych z pierwotnych izolatów komórek pozyskanych od pacjentek.

Pomimo powyższych, drobnym, wręcz kosmetycznym uwag, na podkreślenie zasługuje staranność z jaką zaplanowano badania, wybór właściwych, nowoczesnych metod badawczych i odpowiednie opracowanie uzyskanych wyników. Praca została przeprowadzona zgodnie z wytycznymi Minimal Information for Studies of Extracellular Vesicles 2023 guidelines (MISEV2023), a stosowane metody analizy proteomicznej wykorzystujące spektrometrię mas i metody analizy EV wykorzystujące IFCM należą do najnowocześniejszych i najbardziej złożonych metod analitycznych. Stąd też autorka wykonując badania zademonstrowała znajomość i biegłość w posługiwaniu się nowoczesnym warsztatem badawczym. Dodatkowo wykonane badania in silico i analizy statystyczne dobitnie pokazują biegłość doktorantki w posługiwaniu się oprogramowaniem i zaawansowanymi metodami statystycznymi wykorzystywanymi w analizie proteomicznej.

W kolejnych rozdziałach doktorantka prezentuje uzyskane wyniki, rozpoczynając od potwierdzenia charakterystyki izolatów EV i ich przydatności na dalszych etapach analizy.

Autorka dołożyła wszelkich starań, aby z izolatów usunąć białka i inne cząsteczki utrudniające analizę - lipoproteiny, białka osocza, immunoglobuliny. Opracowała metodę izolacji EV w sposób ułatwiający ich analizę, osiągając przy tym lepsze rezultaty niż inne, często stosowane metody. Przeprowadziła badania mające na celu ocenę uzyskanych izolatów, ich jakości i przydatności pod kątem dalszych analiz. Użyta metoda stanowi pewien kompromis pomiędzy czystością uzyskanych izolatów EV, a maksymalizacją ich uzysku z materiału biologicznego. Uzyskane izolaty zostają zwalidowane z użyciem szeregu metod, co w przekonujący sposób udowadnia, że użyte do analizy proteomicznej próbki, rzeczywiście są izolatami pochodzącymi z EV, z minimalnymi zanieczyszczeniami pochodzącymi od innych białek osocza, płynu tkankowego i białek komórkowych.

Opisy zastosowanych metod są szczegółowe, umożliwiające ich odtworzenie i standaryzację.

Wyniki zawierają także porównanie EV izolowanych z osocza i otrzewnej. Izolaty z otrzewnej dają lepszy wgląd w możliwy związek obserwowanych zmian z patologią endometrii. Zmiany w profilu proteomicznym obserwowane w EV izolowanych z PF mogą lepiej odzwierciedlać lokalne procesy związane z endometriozą, w tym zaangażowanie i modulację odpowiedzi immunologicznej i lokalnego mikrośrodowiska. Autorka potwierdziła, że analiza proteomiczna EV pochodzących z płynu otrzewnowego, istotnie lepiej klasteruje grupy białek, cechuje się większą

czułością detekcji zmian ich ekspresji i umożliwia wgląd w indywidualne cechy komórek endometrialnych. Daje to możliwość potencjalnego określenia pewnych cech tych komórek – tempa proliferacji, inwazyjności, migracji i progresji choroby, co jest odzwierciedlone przez lokalne zmiany w profilu ekspresji wybranych klastrów białek.

Z kolei zmiany obserwowane w profilu EV izolowanych z osocza mogą z mniejszą czułością wykrywać drobne zmiany w profilu ekspresji białek, które mogą być kluczowe dla rozwoju i diagnostyki endometriozy. Pokazują też potencjalne efekty systemowe. Z drugiej strony, osocze jest oczywiście o wiele łatwiejszym do pozyskania materiałem biologicznym, stąd też jego użycie w analizie jest uzasadnione. Wykonana analiza potwierdziła tylko częściową zgodność zmian profilu ekspresji białek w EV izolowanych z osocza i PF.

Doktorantka wskazuje, że analiza proteomiczna próbek pobranej od pacjentki ze stadium IV endometriozy znacznie odbiega profilem od pozostałych. Wskazuje przy tym, że obserwowane różnice mogą być skutkiem zaawansowania zmian i mogą mieć potencjalnie znaczenie różnicujące stopień zaawansowania choroby. W mojej ocenie zbyt daleko idąca interpretacja wyniku jest przedwczesna. Należy pamiętać o znacznych zmiennościach pomiędzy ludźmi, a także wpływie różnych czynników zakłócających, których w przypadku próbek klinicznych nie da się w pełni kontrolować. Stąd też o ile pokazana obserwacja jest ciekawa, to obserwowane różnice mogą być skutkiem niezidentyfikowanych w badaniu czynników.

Pewnym mankamentem przedstawionych w dysertacji badań jest oprócz niewielkich liczebności grup, brak uwzględnienia pacjentek z mniej nasiloną endometriozą (stadia I i II). Analizując wyniki należałoby także uwzględnić podział anatomiczno-kliniczny w opisie pacjentek – miejsce występujących zmian, w związku z oddziaływaniem z lokalnym mikrośrodowiskiem może mieć wpływ na obserwowany profil proteomiczny. Sama lokalizacja endometriozy może też odzwierciedlać indywidualne zmiany w profilu ekspresji białek, sprzyjające np. tworzeniu wszczepów w określonych tkankach/narządach lub zdolności naciekania lokalnych struktur. Pomocne byłoby też podanie charakterystyki pacjentek zgodnie ze skalą ENZIAN, lepiej odzwierciedlającej lokalizację i rozmiar zmian endometrialnych.

Na podkreślenie zasługuje fakt, że doktorantka zvalidowała wyniki uzyskane z MS za pomocą IFCM. Pewną wadą MS jest konieczność uśrednienia indywidualnych profili – metoda ta nie umożliwia określenia profilu ekspresji białka w indywidualnym EV. Stąd też uzyskane wyniki niekoniecznie odzwierciedlają rzeczywistą rolę i zmiany w profilu ekspresji, szczególnie w sytuacji, w której w badanym materiale znajdują się różne subpopulacje EV, pochodzące np. z różnych tkanek. Z taką sytuacją mamy do czynienia w przypadku EV izolowanych z osocza, z kolei EV izolowane z otrzewnej, technicznie powinny cechować się mniejszą heterogenicznością, co zresztą zaobserwowała w swoich badaniach doktorantka. Biorąc pod uwagę powyższe, niezwykle ważna jest walidacja uzyskanych wyników z MS za pomocą innych metod. IFCM daje tu unikatową możliwość analizy ograniczonego profilu białek, ale za to w indywidualnych EV. W efekcie można ocenić ich heterogeniczność i ewentualnie pogrupować je w klastry o określonym profilu. Użycie IFCM umożliwia także przeprowadzenie próby uproszczenia protokołu analizy EV – poprzez ominięcie pracochłonnych i czasochłonnych procedur ich izolacji. Autorka wykazała, że takie podejście może być użyte, lecz, jak sama stwierdziła, wymaga to dalszych badań. W przypadku potwierdzenia przydatności takiego podejścia, otwiera się możliwość relatywnie łatwej translacji uzyskanych wyników do praktyki klinicznej – dzięki uproszczeniu procedury izolacji EV, można by się pokusić o analizę profilu ekspresji wybranych białek bezpośrednio w pobranych próbkach materiału biologicznego. W dyskusji autorka szeroko omawia takie perspektywy, ale także przedstawia związane z tym problemy – obniżenie czułości związane z niewielką liczbą epitopów dla znakowanych przeciwciał, obecnością interferujących EV pochodzących z produkcji użytych przeciwciał oraz ograniczeniem do badania białek powierzchniowych.

Dyskusja jest bardzo szeroka, oparta na najnowszej literaturze. Autorka szeroko omawia uzyskane wyniki, w szczególności dotyczące wykazanych różnic w profilu ekspresji białek. W dyskusji dokładnie została omówiona rola białek, których ekspresja najbardziej się różniła, a uzyskane wyniki zostały skonfrontowane z danymi pochodzącymi z literatury. W dyskusji zostały także

zamieszone wysokiej jakości, bardzo informatywne ryciny, przedstawiające podsumowanie omawianych treści. Autorka z pewnością w ich przygotowanie włożyła dużo pracy, a zamieszone na nich informacje pozwalają na szybkie zapoznanie się z uzyskanymi wynikami, a także ich pogrupowanie w pewne ogólne klastry informacyjne. Sposób pokazania tych informacji jest bardzo czytelny, co ma szczególne znaczenie dla prac, w których dokonywane są analizy wielkoskalowe, takiej jak analizy proteomiczne, w rezultacie których uzyskuje się olbrzymią liczbę danych. W takich przypadkach, niemalże równie ważne jak uzyskane surowe dane, są sposoby prezentacji wyników, umożliwiające czytelnikowi szybkie zorientowanie się w głównych rezultatach i ich implikacjach.

Podsumowując, przedstawiona mi do recenzji rozprawa doktorska stanowi oryginalne opracowanie i wykonanie koncepcji badawczej. Wnosi nową, cenną wiedzę do nauki, a zastosowane przez doktorantkę metody badawcze są nowoczesne i właściwie dobrane do zawartych w pracy celach.

Przedstawiona rozprawa, którą oceniam bardzo wysoko, w pełni odpowiada kryteriom stawianym przed kandydatami do stopnia doktora. Rozprawa doktorska spełnia warunki określone w art. 187 ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. - Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz.U. 2018 poz. 1668) z późn. zm.

W związku z tym mam zaszczyt zwrócić się do Wysokiej Rady Dyscypliny Nauk Medycznych Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego z wnioskiem o dopuszczenie Karolina Magdalena Soroczyńska do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Jednocześnie biorąc pod uwagę wysoki poziom merytoryczny pracy, jakość uzyskanych danych, biegłość warsztatu naukowego i doskonale opracowanie uzyskanych wyników, wymagające zastosowania szeregu metod analizy statystycznej i specjalistycznego oprogramowania, zwracam się do Wysokiej Rady z wnioskiem o wyróżnienie rozprawy doktorskiej mgr inż. Karoliny Magdalena Soroczyńskiej, po spełnieniu kryteriów określonych przez Radę Dyscypliny.

Z poważaniem

Prof. dr hab. n. med. i n. o zdr. Tomasz Francuz

