



Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu
Poznań University of Life Sciences

Dr hab. Joanna H. Śliwowska
Pracownia Neurobiologii
Instytut Zoologii
Wydział Medycyny Weterynaryjnej
i Nauk o Zwierzętach
Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu
ul. Wojska Polskiego 71c
60-625 Poznań

Poznań, 6.10.2015

OCENA ROZPRAWY DOKTORSKIEJ PANI MAGISTER MAŁGORZATY HASIEC

Rozprawa doktorska **Pani mgr Małgorzaty Hasiec** zatytułowana „**Rola salsolinolu w regulacji aktywności sekrecyjnej układu podwzgórze-przysadka-nadnercza u owcy w laktacji**” została wykonana w Instytucie Fizjologii i Żywienia Zwierząt PAN w Jabłonie pod opieką Pana prof. dr hab. Tomasza Misztala.

Przedstawiona do oceny rozprawa doktorska oparta jest na dwóch monotematycznych publikacjach:

- 1) M. Hasiec, D. Tomaszewska-Zaręba, T. Misztal „Suckling and salsolinol attenuate responsiveness of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis to stress: focus on catecholamines, corticotrophin-releasing hormone, adrenocorticotrophic hormone, cortisol and prolactin secretion in lactating sheep.” *J Neuroendocrinol.* 2014 Dec;26(12):844-52.
- 2) Hasiec M, Herman AP, Misztal T. “Salsolinol: a potential modulator of the activity of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis in nursing and postweaning sheep”. *Domest Anim Endocrinol.* 2015 Oct;53:26-34.

Rozprawa doktorska ponadto zawiera omówienie publikacji, na które składają się: streszczenie w języku polskim (2 strony) i angielskim (2 strony), wstęp (8 stron), hipotezy badawcze i cele pracy (1 ½ strony), opis doświadczeń (3 strony), wyniki (3 1/3 strony), dyskusja (8 stron), wnioski (½ strony) i

bibliografia (13 ½ strony). W pracy znajdują się oświadczenia promotora i autora pracy, wykaz skrótów oraz spis treści. Z oświadczeń wynika, że wkład Doktorantki w prowadzone badania był znaczący i wynosił odpowiednio dla publikacji I i II - 60% i 70%.

Przeprowadzone przez Doktorantkę badania dotyczą zagadnień laktacji, która jest ostatnim etapem cyklu reprodukcyjnego ssaków. Okres ten jest niezwykle istotny i konieczny dla przetrwania potomstwa. W tym czasie młode ssaki są zależne od matki, która nie tylko dostarcza im pożywienie ale również zapewnia ochronę. Dla matki jest to natomiast okres wzmożonych wydatków energetycznych związanych z wieloma zmianami na poziomie centralnego układu nerwowego.

W okresie laktacji zachodzi również do tworzenia się więzi matka-potomstwo i obserwowanych jest szereg zmian w zachowaniu mających na celu ochronę i pielęgnację młodych. Regulacja tych zachowań sterowana jest hormonalnie, w tym również przez hormony wydzielane w osi podwzgórze-przysadka mózgowo-nadnercza (ang. HPA – hypothalamic pituitary adrenal axis), której działanie w okresie laktacji jest głównym tematem rozprawy doktorskiej. Funkcjonowanie matczynej osi HPA jest niezwykle istotne dla potomstwa, gdyż hormony dostają się wraz z mlekiem matki do organizmu potomstwa.

W przedstawionej do oceny pracy doktorskiej Pani mgr Małgorzata Hasięc testuje następującą hipotezę badawczą: Salsolinol jest zaangażowany w regulację podstawowej oraz indukowanej stresem aktywności osi HPA u owcy podczas laktacji.

Informacje zawarte we **wstępie** dotyczą funkcjonowania osi HPA i jej adaptacyjnych zmian podczas laktacji. Ta część jest jasno i przystępnie napisana i poparta liczną literaturą. We wstępie należało wspomnieć, że receptory dla mineralokortykoidów (MR) zlokalizowane są w hipokampie, strukturze związanej z procesami uczenia się (głównie lokalizacją w przestrzeni). Tym bardziej, że hipokamp bierze również udział w regulacji osi HPA, a jego obrębie zachodzą zmiany w okresie ciąży i laktacji. W późniejszej części pracy (s. 14) Autorka podaje przecież przykłady badań z użyciem syntetycznego glikokortykoidu (deksometazonu), w których obserwowano zmiany w poziomie mRNA dla MR w obrębie hipokampa.

We wstępie (s.11) Doktorantka wspomina o zmianach uwalniania glikokortykoidów w cyklu dobowym nie rozwijając tej myśli dalej. Zagadnienie to wydaje się być szczególnie istotne z punktu widzenia przeprowadzonych badań gdyż pobieranie próbek krwi, np. rano lub wieczorem może w istotny sposób wpływać na uzyskane wyniki. Czy Doktorantka może ustosunkować się do tej uwagi w kontekście badań własnych? W dalszej części w oparciu o liczne dane literaturowe, wskazujące na dobrą znajomość tematyki przez Doktorantkę, omówione zostały zagadnienia adaptacyjnych zmian zachodzących podczas laktacji. Następnym bardzo logicznym elementem wstępu są przykłady badań związane z reakcją matki w czasie laktacji na stresory w stanach zagrożonego bezpieczeństwa

potomstwa (np. obecność drapieżnika, obecność intruza płci męskiej, czy izolacja od stada). W tej części Autorka skupia się na pokazaniu różnic międzygatunkowych. Podsumowując ten wątek Doktorantka stwierdziła, że u owiec w okresie laktacji odpowiedź osi HPA na stresory jest zmniejszona. Podobne zmniejszenie aktywności osi HPA zaobserwowano u kobiet w odpowiedzi na stresory takie jak obniżenie temperatury, czy intensywne ćwiczenia fizyczne. Przy czym należało dodać dla ścisłości, że wyniki te dotyczą kobiet w okresie ciąży (Kammerer, 2002) i laktacji oraz postpartum (Altemus 1995, 2001). W kolejnej części wstępu Autorka opisuje centralne mechanizmy regulujące aktywność osi HPA podczas laktacji, które najlepiej zostały poznane u szczurów. Wnioskuje się, że do mechanizmów odpowiedzialnych za zahamowanie odpowiedzi osi HPA na stres podczas laktacji można zaliczyć zmniejszenie uwalniania noradrenaliny oraz redukcję funkcji receptorów adrenergicznych w jądrze przykomorowym (PVN) podwzgórza. Następnie przedstawione zostały przykłady badań prowadzonych na szczurach i owcach wskazując na znaczenie bodźca ssania w hamowaniu reakcji na stres. Z kolei Pani mgr Hasiec opisuje dane literaturowe świadczące o roli prolaktyny i oksytocyny w modyfikacji funkcji osi HPA w czasie laktacji. Podczas gdy badania w okresie laktacji wskazują na hamujące działanie prolaktyny na indukowaną stresem aktywność osi HPA, w przypadku oksytocyny wyniki nie są jednoznaczne i mogą być gatunkowo-zależne.

Ostania część wstępu dotyczy salsolinolu (pochodnej dopoaminy), którego obecność wykazano w perfuzatach brzuszno-przysadkowego podwzgórza w okresie laktacji u owiec. W tym podrozdziale dyskutowane są zagadnienia w kwestiach spornych dotyczącej przenikania, bądź nie salsolinolu przez barierę krew-mózg oraz możliwością działania nie tylko związku ale również jego metabolitów. Autorka ponadto podejmuje tematy związane z potencjalną rolą salsolinolu syntetyzowanego z aldehydu octowego w uzależnieniach alkoholowych, patogenezie choroby Parkinsona, czy uwalnianiu prolaktyny. Doktorantka wykazała się dużą znajomością literatury oraz krytycznym myśleniem dyskutując często przeciwstawne wyniki badań.

W tej części znajduje się kilka drobnych błędów stylistycznych: (S. 13) Zdanie zaczyna się od „i” ; „I rzeczywiście wykazano, że...”; (S. 15) Autorka stosuje skrót dla ACTH, CRH ale nie dla prolaktyny (PRL).

Z kolei Doktorantka przechodzi do przedstawienia **hipotezy badawczej**, która brzmi: Salsolinol jest zaangażowany w regulację podstawowej oraz indukowanej stresem aktywności osi podwzgórzowo-przysadkowo-nadnerczowej u owcy podczas laktacji. W moim odczuciu zaprezentowane wcześniej we wstępie przesłanki uprawniają Doktorantkę do testowania ww. hipotezy.

Na s. 21 Autorka napisała „Aby zweryfikować hipotezę, wykonano 3 doświadczenia na owcach w laktacji, które miały na celu...” Poprawniej stylistycznie brzmi zdanie: „W celu zweryfikowania

hipotezy.....” Następnie autorka przedstawia na kolejnych stronach jasno sprecyzowane cele badawcze, które zaprezentowane zostały szczegółowo w publikacjach I i II będących główną częścią doktoratu.

Kolejną część stanowi **opis doświadczeń**. Doktorantka dokonała bardzo krótkiego opisu eksperymentów przedstawionych szczegółowo w publikacjach I i II. Ta część napisana jest zapewne skrótowo ze względu na załączanie oryginalnych prac twórczych, których lektura dopiero pozwala zrozumieć dokładnie procedury eksperymentalne. W tekście Autorka stosuje bowiem skróty myślowe, np. s. 23 „Każde zwierzę zostało wykorzystane w eksperymencie dwukrotnie, z zastosowaniem 3-4-dniowej przerwy” bez wyjaśnienia szczegółów. Podobne sformułowanie znajduje się na stronie 24. Mało czytelna jest również Tabela 1 (s. 24). Dodanie w pierwszej kolumnie słów „samice owcy” ułatwiłoby jej zrozumienie. Ponadto „-, oznaczający – czynnik niestosowany można zastąpić „brak czynnika”. W oryginalnej pracy twórczej (Publikacja I) odpowiednik tabeli 1 (s. 845) jest bardziej czytelny. Na stronie 24 użyto sformułowanie „...co każde 10 minut, pobrano próbkę krwi”. Słowo „każde” wydaje się tutaj być niepotrzebne.

Z kolei Doktoranta przechodzi do omówienia **wyników i dyskusji zawartych w publikacjach I i II**.

Publikacja I

Przesłanki do przeprowadzenia eksperymentów zamieszczonych w publikacji I pochodzą z badań, które wskazują, że:

- 1) U ssaków odpowiedź osi HPA na stres jest znacznie obniżona w okresie laktacji w wyniku ssania przez młode.
- 2) Ssanie prowadzi to stymulacji wydzielania z podwzgórza salsolinolu, który z kolei stymuluje czynniki uwalniające hormon – prolaktynę.

Autorka w tej publikacji przeprowadziła szereg eksperymentów, w których badała wpływ stresu (izolacja) oraz infuzji salsolinolu i jego antagonisty (1-MeDIQ) na funkcjonowanie osi HPA w okresie laktacji. W doświadczeniach pobierano perfuzaty z IN/ME (jądra lejka/wzniosłości pośrodkowej) metodą push-pull oraz krew. Określano stężenie hormonu uwalniającego kortykotropinę (CRH), katecholamin (noradrenaliny, dopaminy i salsolinolu) oraz stężenia hormonu adrenokortykotropowego (ACTH), kortyzolu (CORT) i prolaktyny (PRL).

W wyniku przeprowadzonych eksperymentów uzyskano wiele interesujących wyników i dokonano nowatorskich odkryć. Poniżej przedstawię wybrane i najbardziej interesujące. Doktorantka wykazała, że:

- 1) Zarówno samice izolowane od owcy towarzyszącej, jak i od owcy towarzyszącej i potomstwa (grupy poddane stresowi izolacji) miały wyższe średnie stężenie ACTH i CORT w porównaniu z grupą kontrolną (brak stresu). Ponadto nie stwierdzono różnic w stężeniu ACTH i CORT pomiędzy zwierzętami poddanymi tym dwóm rodzajom stresu izolacji.
- 2) Samice przebywające z potomstwem mające swobodny dostęp wymienia, ale izolowane od owcy towarzyszącej, miały niższe średnie stężenie ww. hormonów niż owce przebywające z jagnięciem bez dostępu do wymienia i izolowane od owcy towarzyszącej.
Stąd też Doktorantka na podstawie przeprowadzonych badań wykazała, że ssanie obniża poziom ACTH i CORT potwierdzając w ten sposób wcześniejsze badania. Co ciekawe, nie odnotowano przy tym zmian w stężeniu CRH w perfuzatach u badanych grup zwierząt.
- 3) Infuzja salsolinolu u owiec izolowanych od owcy towarzyszącej i potomstwa prowadziła do obniżenia stężenia ACTH i CORT w porównaniu ze zwierzętami przebywającymi w tych samych warunkach stresowych a otrzymujących infuzję płynu Ringera-Locke'a (RL). Przy tym nie odnotowano różnic w stężeniu CRH w perfuzatach w badanych grupach zwierząt. Stąd też Doktorantka wykazała „protekcyjne” działanie salsolinolu na oś HPA w okresie laktacji.
- 4) Infuzja antagonisty salsolinolu (1-MeDIQ) zgodnie z oczekiwaniami spowodowała wzrost odpowiedzi osi HPA na stres izolacji od owcy towarzyszącej. Zaobserwowano wzrost stężenia CRH i CORT oraz spadek stężenia salsolinolu w perfuzatach IN/ME.
Czy Autorka może próbować wyjaśnić dlaczego salsolinol i antagonisty nie działają w przeciwny sposób? Wyniki bowiem sugerują, że salsolinol nie działa poprzez CRH natomiast antagonisty modulują stężenie CRH. W dyskusji oraz w Publikacji I (s. 849) Doktorantka porusza zagadnienia nieznane do tej pory mechanizmu działania salsolinolu w obrębie osi HPA. Nie zidentyfikowano do tej pory również receptora, a doniesienia literaturowe również wskazują na to, że salsolinol może działać poprzez receptory dopaminy (s. 35).
- 5) Stres izolacji prowadzi do wzrostu stężenia katecholamin (noradrenaliny) w IN/ME (zarówno w grupie samic izolowanych od owcy towarzyszącej i jagnięcia, jak i izolowanych tylko od owcy towarzyszącej) w porównaniu do grupy kontrolnej (brak stresu). Przy czym stres „podwójnej izolacji” powodował większy wzrost w stężeniu noradrenaliny niż u owiec izolowanych tylko od owcy towarzyszącej. Wyniki te według Doktorantki mogą wskazywać na większą aktywację układu noradrenergicznego w przypadku silniejszego stresora (izolacji od owcy towarzyszącej i potomstwa). Ponadto oprócz stresu izolacji (stres fizycznym) mamy tutaj także do czynienia ze stresem

psychologicznym – stresor zagrożenia dla potomstwa (Deschamps et al. 2003). Wprowadzenie tych terminów może być pomocne w dyskusji. Jak trafnie zauważa Autorka istnieje potrzeba prowadzenia kolejnych badań, gdyż poziom noradrenaliny w IN/ME nie jest odzwierciedleniem ilości tego neuroprzekaźnika docierającej do PVN. Czy może Autorka przedstawić propozycje eksperymentu czy eksperymentów zmierzających do rozwiązania tego problemu badawczego ?

- 6) Stres izolacji od owcy towarzyszącej, jak również izolacji od owcy towarzyszącej i jagnięcia spowodował wzrost stężenia dopaminy w IN/ME. Natomiast poziom tej katecholaminy był niewykrywalny u owiec kontrolnych (nie poddanych stresowi). Chyba to lepsze określenie niż używane przez Autorkę („niestresowanych”), s. 32. Ten brak dopaminy w okresie laktacji Doktorantka tłumaczy zahamowaniem ścieżki sygnałowej JAK-STAT w neuronach dopaminergicznym w podwzgórzu.
- 7) Zaobserwowano spadek stężenia prolaktyny w warunkach izolacji od owcy towarzyszącej w porównaniu z grupą owiec kontrolnych (brak stresu). Natomiast zgodnie z przypuszczeniem i danymi literaturowymi samice izolowane od owcy towarzyszącej przebywające z potomstwem mającym swobodny dostęp do wymienia miały wyższe stężenie prolaktyny niż zwierzęta, które nie miały dostępu do wymienia. Jednakże Doktorantka wykazała, że w okresie laktacji stres nie stymuluje wydzielanie prolaktyny potwierdzając wcześniejsze wyniki uzyskane w eksperymentach na szczurach (Bańky et al., 1994).
- 8) W badanych warunkach zarówno infuzje salsolinolu, jak i antagonisty nie wpłynęły na stężenie PRL. Stąd też Doktorantka wysunęła wniosek, że w warunkach stresu salsolinol nie jest efektywnym czynnikiem uwalniającym PRL. Wyniki te jednocześnie wskazują na to, że prolaktyna nie pośredniczy w hamującym wpływie salsolinolu na indukowane stresem uwalnianiu ACTH i CORT. Jednocześnie Autorka sugeruje, że hormonem hamującym oś HPA poprzez salsolinol może być oksytocyna. Jednakże nie przeprowadzono dotychczas badań na owcach w okresie laktacji weryfikujących tą hipotezę badawczą.

Publikacja II

W tej publikacji wykonano 2 doświadczenia:

- 1) Na owcach w okresie laktacji przebywające z potomstwem, które miały uniemożliwiony dostęp do wymienia. Zwierzęta otrzymywały infuzje RL i 1-MeDIQ do IIIv (4 półgodzinne).

Wykonywano perfuzje push-pull IN/ME (przez 30 min.) i pobierano krew (co 10 min.). W perfuzatach badano stężenie CRH a we krwi ACTH i CORT przy pomocy RIA.

Badania te miały na celu testowanie wpływu antagonisty salsolinolu na podstawową (brak stresu) regulację aktywności osi HPA w okresie laktacji u owiec.

- i) Wykazano, że samice po infuzji antagonisty (1-MeDIQ) do IIIv miały wyższe stężenie ACTH w 2, 3 i 4 godz. doświadczenia oraz wyższe stężenie CORT w 3 i 4 godzinie w porównaniu z samicami, które otrzymały RL (Fig.1 B, C, s. 29). Czy Doktorantka może wyjaśnić dlaczego w 2 godz. następował istotny statystycznie wzrost stężenia ACTH ale nie było istotnego statystycznie wzrostu stężenia CORT ?
 - ii) Nie wykazano natomiast różnic w CRH w perfuzatach IN/ME między grupami (Fig.1 A, s.29).
- 2) Na samicach owiec, 48 godzin po odsadzeniu 8-tygodniowych jagniąt. Jak napisała Doktorantka - samice podzielono na 2 grupy (s. 25) tutaj należało dodać – kontrolną (infuzje RL) i eksperymentalną (infuzje salsolinolu). Z opisu nie wiadomo o jakie grupy chodzi. Dopiero kilka zdań dalej pojawia się ta informacja a lektura publikacji II całkowicie wyjaśnia tę nieścisłość. W czasie doświadczenia mierzono stężenie ACTH i CORT, pobrano tkanki przedniego płata przysadki mózgowej i oceniano poziom mRNA dla POMC.

Doświadczenie to miało na celu badanie wpływu salsolinolu podawanego do IIIv na aktywność osi HPA u owiec po odsadzeniu jagniąt.

- i) Wykazano że samice, które po odsadzeniu potomstwa otrzymały infuzje salsolinolu miały niższe stężenie ACTH i CORT niż zwierzęta, które otrzymały infuzje RL. Nie wykazano natomiast statystycznie istotnych różnic między ww. grupami w poziomie mRNA dla POMC w przednim płacie przysadki mózgowej.

Co prawda uzyskano wyniki negatywne w badaniu mRNA dla POMC ale nie ma w treści doktoratu zdjęć przedstawiających te dane. Warto przedstawić chociażby wyniki jakościowe wraz z odpowiednimi badaniami kontrolnymi.

Dodatkowo w Publikacji II dokonano porównania aktywności osi HPA w grupach kontrolnych z doświadczenia 1 (tj. owiec w okresie laktacji przebywających z potomstwem) i doświadczenia 2 (tj. owiec, od których 48 godzin wcześniej odsadzono 8-tygodniowe jagnięta).

- i) Stwierdzono, że stężenie ACTH I CORT podczas pierwszych dwóch godzin było wyższe o owiec, od których 48 godzin wcześniej odsadzono 8-tygodniowe jagnięta, niż to zaobserwowane u owiec w okresie laktacji.

Podsumowując należy stwierdzić, że przedstawione badania są nowatorskie. Natomiast uzyskane wyniki uprawniają do wyciągnięcia następujących wniosków:

- 1) Salsolinol hamuje podstawową oraz indukowaną stresem aktywność osi HPA u owcy w czasie laktacji.
- 2) Mechanizm działania salsolinolu może być odmienny w warunkach stresu i w okresie jego braku. W czasie braku stresu salsolinol kontroluje uwalnianie ACTH, natomiast w warunkach stresu może być także zaangażowany w hamowanie uwalniania CRH.
- 3) Układ dopaminergiczny i adrenergiczny mogą dodatkowo modulować hamujące działanie salsolinolu na oś HPA w warunkach stresu.
- 4) Salsolinol w czasie laktacji w warunkach stresu nie stymuluje uwalnianie prolaktyny z przysadki mózgowej do krwi.
- 5) Salsolinol nie powoduje zmian w ekspresji mRNA dla POMC w przednim płacie mózgowym przysadki owcy w okresie laktacji.

Wnioski końcowe

Praca zawiera nowe i ważne z punktu widzenia badań podstawowych odkrycia. Nowatorstwo polega na wykazaniu centralnej roli salsolinolu w modyfikacji odpowiedzi na stres na poziomie osi HPA w czasie laktacji u owiec. O wysokiej jakości przeprowadzonych badań świadczy również fakt, iż wyniki zostały opublikowane w czasopiśmie indeksowanym (IF 3.138 – Publikacja I) i (IF 2.171 – Publikacja II). Szczególnie wartościowe z punktu widzenia poznawczego są badania przedstawione w publikacji I, które ukazały się w prestiżowym czasopiśmie *Journal of Neuroendocrinology*.

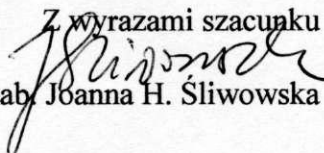
Przedstawiona do oceny rozprawa doktorska, na którą składają się dwie monotematyczne publikacje oraz ich opis zawiera wszystkie niezbędne części wymagane w stosunku do rozprawy doktorskiej a ich proporcje są prawidłowe. Doktoranka wykazała się dużą znajomością literatury oraz krytycznym myśleniem zwłaszcza w części dotyczącej dyskusji wyników własnych. Ponadto należy podkreślić, że prowadzone badania były bardzo czasochłonne, pracochłonne i wymagające dużych zdolności logistycznych. Jednakże w części opisowej pracy (po polsku) znalazły się drobne niedociągnięcia. W wykazie skrótów napisano „HPA – podwzgórzowo-przysadkowo-nadnerczowa”, brakuje tu słowa oś. Proponuje się stosowanie skrótu dla prolaktyny (PRL). Część dotycząca układu doświadczalnego jest niewątpliwie skomplikowana ale przedstawienie jej w postaci tabeli uzupełnionej o dodanie do słowa grupa „samice owcy” oraz użycie zamiast „czynnik niestosowany,„ stwierdzenia „brak czynnika” ułatwiłoby zrozumienie przeprowadzanych procedur doświadczalnych. Być może Doktorantka w przyszłości będzie chciała napisać pracę przeglądową na temat regulacji osi HPA w czasie laktacji a wówczas zebranie danych w tabeli może ułatwić szybkie zrozumienie przekazywanych treści. Ponadto opis doświadczeń jest bardzo skrótowy (np. s. 25). Można było zebrać i podsumować wyniki w tabeli.

Te drobne uchybienia wynikają zapewne stąd, że Doktorantka w zasadzie dokonała skrótowego opisu tego, co zawarte jest w wersji rozwiniętej w oryginalnych pracach twórczych.

Powyższe uwagi nie obniżają wartości pracy i nie umniejszają jakości prowadzonych badań oraz uzyskanych nowatorskich i ważnych dla nauki podstawowej oraz medycyny weterynaryjnej wyników. Na pewno warto kontynuować te obiecujące badania w zakresie oceny poziomu mRNA dla badanych neurotransmiterów na poziomie jądra PVN.

Stwierdzam, iż przedstawiona do recenzji rozprawa doktorska Pani mgr Małgorzaty Hasiec spełnia wszystkie wymagania określone w ustawie z dnia 14 marca 2003 roku (z późniejszymi modyfikacjami) o stopniach i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki.

W związku z powyższym wnioskuję o dopuszczenie Pani mgr Małgorzaty Hasiec do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Z wyrazami szacunku

Dr hab. Joanna H. Śliwowska