



dr hab. Monika Hułas-Stasiak
Katedra Anatomii Funkcjonalnej i Cytobiologii
Instytut Nauk Biologicznych
Wydział Biologii i Biotechnologii
Uniwersytet Marii Curie-Skłodowskiej
Ul. Akademicka 19, 20-033 Lublin
tel. (081) 5375908
email: monika.hulas-stasiak@mail.umcs.pl

Lublin, 22 grudnia 2022

Recenzja rozprawy doktorskiej

Pani mgr Patrycji Witek

**pt., „Molekularne aspekty funkcjonowania jajnika dojrzałej płciowo świni
po neonatalnej ekspozycji na związki o aktywności endokrynej”**

wykonanej w Zakładzie Endokrynologii na Wydziale Biologii Uniwersytetu Jagiellońskiego pod kierunkiem dr hab. Katarzyny Knapczyk-Stwora, prof. UJ

Przedstawiona mi do recenzji praca doktorska została przygotowana w postaci zbioru czterech publikacji opublikowanych w latach 2020-2022, które tworzą spójną tematycznie całość. Wszystkie prace ukazały się w czasopismach naukowych o międzynarodowym zasięgu (baza Web of Science) uwzględnionych na liście czasopism MNiSW wraz z przypisaną im punktacją.

Dysertacja została poprawnie skonstruowana i zgodnie z zaleceniami Rady Wydziału Biologii UJ zawiera wszystkie wymagane elementy rozprawy doktorskiej przygotowanej w formie zbioru artykułów. Dysertację dokorską rozpoczyna **Streszczenie** w języku polskim i angielskim, w którym Autorka zwięźle nakreśliła tematykę pracy doktorskiej, omówiła cele oraz najważniejsze osiągnięcia naukowe opublikowane w zamieszczonych artykułach. Przedstawiony na kolejnych pięciu stronach **Wstęp** zawiera wprowadzenie do tematyki badawczej. W rozdziale tym Doktorantka scharakteryzowała auto- i parakryne czynniki, które wpływają na dojrzewanie pęcherzyków jajnikowych, funkcjonowanie oraz luteolizę ciała żółtego świni domowej, będącej organizmem modelowym w przeprowadzonych przez Autorkę badaniach. Ponadto Doktorantka wskazała występowanie związków endokrynie aktywnych (ang. endocrine active chemicals,



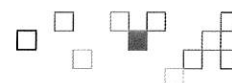


EACs), tak powszechnych w codziennym życiu, jako globalnego problemu dla środowiska oraz zdrowia zwierząt i ludzi. EACs mogą istotnie zaburzać działanie układu endokrynnego i wywierać negatywny efekt na zdrowie i płodność organizmów żywych, w tym człowieka. Celem, jaki przyświecał podjętej pracy było określenie wpływu wybranych EACs, podawanych w okresie neonatalnym, na potencjał i zdolności reprodukcyjne dojrzałej płciowo świni.

Wstęp stanowią zwarte i logicznie uporządkowane informacje, które płynnie wprowadzają czytelnika w ogólną tematykę artykułów prezentowanych w dalszej części pracy i uzasadniają wybór podjętych badań oraz modelu zwierzęcego. Prezentowane zagadnienia są poparte adekwatną literaturą. Autorka stosuje akronimy, które zawierają w nawiasach rozwinięcie i wyjaśnienie znaczenia skrótovej formy używanej w kolejnych rozdziałach pracy. Ten zabieg zdecydowanie ułatwia czytanie rozprawy.

Hipoteza, cele oraz zadania badawcze zostały poprawnie i jasno sformułowane oraz konsekwentnie realizowane w podjętych pracach badawczych. Kolejny rozdział został poświęcony **omówieniu publikacji** stanowiących podstawę rozprawy doktorskiej. Dołączono 4 artykuły wybrane do rozprawy oraz oświadczenia współautorów o indywidualnym procentowym wkładzie w każdą publikację. Należy podkreślić, że Doktorantka jest pierwszym autorem wszystkich publikacji składających się na rozprawę doktorską, a Jej wkład w ich powstanie był wiodący i wynosił od 50 do 60%. Pani mgr Patrycja Witek wykonała znaczną część eksperymentów i analiz, uczestniczyła w opracowaniu i interpretacji wyników, redagowaniu manuskryptów, a w ostatniej publikacji (4) jest również autorem korespondencyjnym. Doktoranta ma więc pełne prawo do włączenia wyżej wymienionych prac do cyklu publikacji stanowiącego podstawę do ubiegania się o stopień naukowy doktora.

Techniki badawcze stosowane w celu przeprowadzenia odpowiednich analiz zostały obszernie opisane w artykułach włączonych do rozprawy doktorskiej. Na ich podstawie można stwierdzić, że Doktorantka opanowała różnorodny i nowoczesny warsztat badawczy, w tym metody immunohistochemiczne, analizy kolorymetryczne i immunoenzymatyczne, technikę

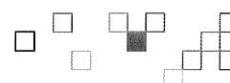




Western-blot, metodę real-time PCR, a także umiejętnie posługuje się narzędziami statystycznymi do analizy uzyskanych danych.

Sposób przedstawienia **wyników** i ich krytyczna analiza podlegały już ocenie przez recenzentów czasopism, w których zostały opublikowane artykuły będące podstawą rozprawy. Zamieszczony w Autoreferacie opis wyników zmusza recenzenta do weryfikacji informacji w nim zawartych z danymi opublikowanymi w poszczególnych pracach stanowiących rozprawę doktorską. Stwierdzam pełną spójność wyników zamieszczonych w Autoreferacie z danymi opublikowanymi w załączonych publikacjach. Pragnę podkreślić, iż Doktorantka potrafi krytycznie analizować i umiejętnie interpretować swoje wyniki. Sekwencja przedstawionych prac jest zwarta tematycznie, starannie przemyślana i świadczy o rozwoju naukowym Doktorantki oraz dążeniu do rozwiązania konkretnego problemu badawczego. Uważam, że wszystkie figury (wykresy, zdjęcia) zamieszczone w publikacjach są czytelne i stanowią znakomite uzupełnienie tekstu, a całość pracy została poddana stosownej edycji. Pozwolę sobie jednak zauważyć, że konieczność zaprezentowania w języku polskim treści ujętych w ramach wspomnianych anglojęzycznych prac, powoduje czasami pewne niezręczności językowe. Mam pewne wątpliwości co do poprawności zastosowania w Autoreferacie terminu metyltransferazy, według mnie, poprawny termin to metylotransferazy. W publikacji nr. 4 Doktorantka analizowała ekspresję mRNA oraz poziom białka dla GDF9 i BMP15 w pęcherzykach przedantralnych dojrzałych płciowo świń. Dlaczego taka sama analiza nie została wykonana w przypadku małych pęcherzyków antralnych? Dane literaturowe potwierdzają obecność tych białek również w pęcherzykach antralnych świni (Paradis F, Novak S, Murdoch GK, Dyck MK, Dixon WT, Foxcroft GR. Temporal regulation of BMP2, BMP6, BMP15, GDF9, BMPR1A, BMPR1B, BMPR2 and TGFBR1 mRNA expression in the oocyte, granulosa and theca cells of developing preovulatory follicles in the pig. Reproduction. 2009,138(1):115-29. doi: 10.1530/REP-08-0538).

W rozdziale Dyskusja Doktorantka wykazała się dojrzałością naukową oraz zdolnością do kompleksowej interpretacji uzyskanych przez siebie wyników na tle cytowanego piśmiennictwa, zamieszczonego w końcowym rozdziale Autoreferatu. Wykaz literatury liczy 86 pozycji.





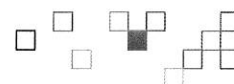
Dobór literatury jest jak najbardziej odpowiedni, powiązany z problematyką pracy i świadczy o bardzo dobrej orientacji Doktorantki w badanej tematyce i umiejętności korzystania ze źródeł internetowych.

Rozdział **Podsumowanie i Wnioski** przedstawia weryfikację postawionych hipotez badawczych, odwołując się do odpowiednich prac eksperymentalnych i dokonując w syntetyczny i logiczny sposób podsumowania uzyskanych wyników. Na ich podstawie Autorka sformułowała następujące wnioski:

1. Neonatalna ekspozycja jajników na wybrane endokrynnie aktywne związki (EACs) prowadzi do zmian w poziomie hormonów steroidowych i profilu lipidowym, co może zakłócać steroidogenezę ciała żółtego (CL) oraz powodować nieprawidłowości w jego morfologii.
2. Nieprawidłowości w funkcjonowaniu CL mogą być częściowo związane ze zmianami epigenetycznymi indukowanymi przez EACs.
3. Zaburzona steroidogeneza w CL, a także jego przedwczesna luteoliza strukturalna obserwowana po działaniu metoksychloru może być wynikiem nieprawidłowego profilu ekspresji miRNA
4. Neonatalna ekspozycja na EACs prowadzi do zmian w ekspresji czynników GDF9, BMP15, AMH wraz z ich receptorami oraz poziomu FSH/FSHR w pęcherzykach przedantralnych i małych antralnych, co może zakłócać rekrutację wstępną i cykliczną pęcherzyków jajnikowych u dojrzałych płciowo sów.

Wszystkie te wnioski potwierdzają, że endokrynnie aktywne związki, obecne w środowisku mogą programować jajnik w okresie neonatalnym, co ma długotrwałe konsekwencje i może istotnie zaburzać funkcjonowanie dojrzałej płciowo gonady.

W podsumowaniu pragnę podkreślić, że Doktorantka znakomicie wywiązała się ze wszystkich zadań, jakie zostały postawione w celach pracy, a otrzymane wyniki są oryginalne i interesujące. Niewątpliwie mają one cechy odkryć naukowych i wnoszą istotny wkład w poznanie roli endokrynnych dysruptorów jako związków indukujących istotne zmiany w





mechanizmach epigenetycznych, regulujących folikulogenezę w jajniku neonatalnych prosiąt. Z kolei zaburzona homeostaza hormonalna organizmu, w krytycznym dla rozwoju jajnika okresie neonatalnym może zaburzać funkcje rozrodcze dojrzałych płciowo samic.

Mimo widocznej dużej staranności w przygotowaniu rozprawy doktorskiej, Autorce nie udało się uniknąć drobnych błędów i nieścisłości. Pragnę jednak wyraźnie zaznaczyć, że nieliczne uwagi krytyczne zawarte w recenzji w żaden sposób nie umniejszają wartości całej pracy i nie wpływają na moją wysoką ocenę dysertacji. W tym miejscu chciałabym również poprosić Doktorantkę o nakreślenie dalszych planów naukowych i ewentualnych pomysłów kontynuowania prac badawczych związanych z wykorzystaniem uzyskanych wyników.

Uważam, że przedstawiona do recenzji rozprawa doktorska spełnia wszelkie wymagania określone w artykuale 187 Ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Przepisy wprowadzające ustawę-Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 2020 r. poz. 85 z późn. zm). W związku z powyższym, przedkładam Wysokiej Radzie Dyscypliny Nauki Biologiczne Uniwersytetu Jagiellońskiego w Krakowie wniosek o dopuszczenie Pani mgr Patrycji Witek do dalszych etapów przewodu doktorskiego. Ponadto, biorąc pod uwagę kompleksowość prowadzonych badań, obszerność i wartość merytoryczną uzyskanych wyników oraz fakt, że zostały one opublikowane w renomowanych czasopismach z bazy JCR, a łączny współczynnik oddziaływania IF tych prac wynosi 13,562 rekomenduję jednocześnie wyróżnienie pracy stosowną nagrodą.

dr hab. Monika Hułas-Stasiak

