



UNIwersytet Rolniczy
im. Hugona Kołłątaja w Krakowie

Wydział Hodowli i Biologii Zwierząt
Katedra Biotechnologii Zwierząt

Kraków 4.09.2018

Dr hab. inż. Edyta Molik
Katedra Biotechnologii Zwierząt
Wydział Hodowli i Biologii Zwierząt
Uniwersytet Rolniczy im. Hugona Kołłątaja w Krakowie

OCENA

PRACY DOKTORSKIEJ MGR KAROLINY WOJTULEWICZ

Wykonanej w Zakładzie Inżynierii Genetycznej, Instytutu Fizjologii i Żywienia Zwierząt im. Jana Kielanowskiego, Polskiej Akademii Nauk, Jabłonna
pod opieką naukową Pana dr hab.inż. Andrzeja Przemysława Hermana, prof. nadzw. IFiZZ
nt.

**Wpływ fotoperiodu i stanu zapalnego na aktywność sekrecyjną części
guzowatej przysadki samicy owcy**

Recenzja została przygotowana na wniosek Rady Naukowej Instytutu Fizjologii i Żywienia Zwierząt im. Jana Kielanowskiego, Polskiej Akademii Nauk podjęty w dniu 6 grudnia 2017 roku, zgodnie z wymaganiami art. 20 ust.5 ustawy z dnia 14 marca 2003 roku o stopniach i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. z 2003, Nr 65, poz.595 z póź. zm.)

Owce, jako zwierzęta o silnie zaznaczonej sezonowości rozrodu, reagują na zmiany długości dnia, który stanowi główny sygnał do rozpoczęcia okresu aktywności płciowej. Wykazują dużą zmienność pod względem początku i trwania okresu rozrodczego. U ssaków światło stanowi podstawowy bodziec informujący organizm o zmianie długości dnia. Jednak impulsy światła nie docierają do dalszych struktur CUN (*Central Nervous System*) zwierzęcia bezpośrednio ze względu na uwarunkowania anatomiczne. Zatem bodziec świetlny jest u nich przekształcany na biochemiczny sygnał, którym jest sekrecja melatoniny.

U zwierząt dnia krótkiego długi sygnał wysokiego stężenia melatoniny w czasie krótkich dni w okresie jesienno-zimowym, wpływa stymulująco na sekrecję hormonów gonadotropowych syntetyzowanych przez przysadkę mózgową.

Dla pełnej synchronizacji cyklu reprodukcyjnego niezbędny jest sygnał melatoniny charakterystyczny dla długiego fotoperiodu. Bazując na istniejącym stanie wiedzy, Autorka przedstawiła hipotezę badawczą, która zakłada, że stan zapalny wpływa na sekrecję LH w PT owiec.

Celem przedstawionej do recenzji pracy było zbadanie czy: stan zapalny, wywołany iniekcją endotoksyny bakteryjnej (LPS) wpływa na sekrecję LH i ekspresję GnRHR (receptor gonadoliberyny) w PT owcy, czy to oddziaływanie jest zależne od warunków świetlnych oraz statusu rozrodczego zwierząt, oraz czy fotoperiod wpływa na transkrypcje cytokin prozapalnych w PT. Dotychczas przeprowadzone badania wykazały, że cytokiny prozapalne modulują sekrecję hormonów gonadotropowych i przyczyniają się do wystąpienia zaburzeń rozrodu. Szczególnie istotne znaczenie ma ten fakt u zwierząt sezonalnych, u których długość dnia determinuje aktywność płciową. Rozpoznanie aspektów immunologicznych wpływających na rozród owiec ma istotne znaczenie dla praktyki hodowlanej i uwarunkowań ekonomicznych. Zatem wybrany przez doktorantkę temat pracy jest ciekawy, w pełni uzasadniony i stanowi kontynuację dotychczas prowadzonych badań w Zakładzie Inżynierii Genetycznej, Instytutu Fizjologii i Żywienia Zwierząt im. Jana Kielanowskiego, Polskiej Akademii Nauk, Jabłonna.

Przedstawiona do recenzji rozprawa doktorska Pani mgr Karoliny Wojtulewicz składa się z dwóch części. Pierwszą stanowi część opisowa obejmująca: informacje o pracach stanowiących podstawę ubiegania się o stopień naukowy doktora nauk rolniczych (1 strona), wstęp (21 stron), hipotezę badawczą i cel naukowy pracy (1 strona), materiał i metody badań (6 stron), omówienie wyników (30 stron), podsumowanie (2 strony), wniosek końcowy (1 strona), bibliografie (14 stron, obejmującą 172 pozycje - z czego 163 pozycje w języku angielskim i 9 w języku polskim), oraz streszczenie w języku polskim i angielskim (9 stron). Druga część to cykl trzech oryginalnych prac naukowych, opublikowanych w latach 2016 - 2017 w czasopismach umieszczonych na liście A w wykazie czasopism Naukowych MNiSzW: odpowiednio *Molecules* - IF 3,098, MNiSzW- 30 pkt., *Journal of Animal and Feed Science* - IF 1,024, MNiSzW- 20 pkt., *Canadian Journal of Animal Science* - IF 0,65, MNiSzW - 25pkt.

Łączny IF publikacji wynosi 4,77 a liczba punktów MNiSzW - 75pkt., co można uznać za dobrą punktację w przypadku Osoby starającej się o stopień naukowy doktora.

Przedstawione w rozprawie doktorskiej publikacje są wieloautorskie, jednak na uwagę zasługuje fakt, że Pani mgr Karolina Wojtulewicz we wszystkich pracach jest pierwszym autorem, a procentowy udział stanowi odpowiednio 60%, 55%, 50%, co świadczy o dojrzałości naukowej i dobrym przygotowaniu merytorycznym Doktorantki.

We wstępie części tekstowej rozprawy doktorskiej, a także w opublikowanych pracach autorka w wyczerpujący sposób przedstawiła aktualny stan wiedzy w zakresie podjętych badań. W tej części rozprawy doktorskiej Doktorantka nie fortunnie używa określenia dotyczącego samca owcy, „jako baran” w prawidłowym nazewnictwie zootechnicznym i dokumentacji hodowlanej, samiec owcy jest określany, jako tryk. Pojęcie „baran” jest bardziej stosowane w gwarze ludowej lub może odnosić się do znaku zodiaku. Dlatego też sugeruję, aby w kolejnych opracowaniach naukowych raczej używać pojęcia tryk. Pomimo drobnych uchybień we wstępie, uważam, że doktorantka wykazała się bardzo dobrą znajomością literatury i merytorycznie przedstawiła zakres tematu badawczego.

Cel przedstawionej rozprawy doktorskiej został jasno sprecyzowany i zrealizowany w oparciu o trzy doświadczenia, które przeprowadzono na owcach rasy czarnogłówka, jako rasie sezonowo-rujowej. W rozdziale dotyczącym opisu zwierząt doświadczalnych Autorka nie podaje, w jakim wieku były owce i jak oceniano ich kondycje przed rozpoczęciem doświadczeń, czy były wyrównane pod względem masy ciała. U owiec produktywność (użytkowość rozplodowa) jest mocno zależna od wieku zwierzęcia oraz od kondycji, w jakiej zwierzęta są wprowadzane do stanówki. Doświadczenie I dotyczyło określenia wpływu melatoniny na sekrecję LH, w eksplantach PT pobranych w fazie pęcherzykowej od owiec grupy kontrolnej, oraz grupy doświadczalnej traktowanej LPS. W opisie doświadczenia pierwszego Autorka pisze, że badania przeprowadzono, w „fotoperiodzie dnia krótkiego” nie podając konkretnego terminu, jest to zbyt ogólne stwierdzenie dotyczące warunków doświadczalnych.

Doświadczenie II dotyczyło zbadania wpływ stanu zapalnego na ekspresje genów cytokin pozapalnych oraz ich receptorów w fazie ciemnej (noc) w warunkach dnia długiego i krótkiego. Natomiast doświadczenie III – dotyczyło zbadania wpływ stanu zapalnego i rytmu dobowego (dzień/ noc) na sekrecję LH w PT, w sezonie anestrlnym i fazie pęcherzykowej cyklu rujowego. Biorąc pod uwagę fakt, że badania przeprowadzono na dużej liczbie zwierząt, i to zwierząt dużych gospodarskich, w warunkach zróżnicowanej długości dnia, wymagało to od Doktorantki dużego zaangażowania i pracy przy doświadczeniach w ciągu dnia i nocy. W trakcie badań Autorka zastosowała, nowoczesne metody analityczne, których

użycie pozwoliło na realizację zamierzonego celu i w konsekwencji przyjęcie prac do druku w IF czasopismach.

W kolejnym rozdziale manuskryptu zatytułowanym „omówienie najważniejszych wyników prac eksperymentalnych” Doktorantka szczegółowo opisuje, co udało się osiągnąć w poszczególnych zadaniach badawczych. Przeprowadzone badania w ramach doświadczenia pierwszego wykazały, że melatonina oddziałuje na sekrecję LH na poziomie PT. Uzyskane wyniki można uznać, jako potwierdzenie już wczesniej przeprowadzonych badań. Jednak badania przeprowadzone przez Doktorantkę wykazały, że wrażliwość PT na działanie melatoniny i GnRH jest zależna od statusu immunologicznego zwierzęcia, a w szczególności od syntezy prozapalnych cytokin. Istotnym elementem przeprowadzonych badań było wykazanie, że eksplanty pobrane od zwierząt traktowanych endotoksyną charakteryzowały się wyższą transkrypcją mRNA dla IL-6, co może sugerować parakrynnie oddziaływanie tej cytokiny. W doświadczeniu drugim dotyczącym wpływu stanu zapalnego i fotoperiodu na ekspresję genów kodujących receptory cytokin pozapalnych w PT owiec wykazano, że stan zapalny wywołany wprowadzeniem LPS stymuluje ekspresję genów dla receptorów TNF w PT, jedynie w warunkach dnia krótkiego (długa noc). Na uwagę zasługuje fakt, że u owiec opisano te relacje po raz pierwszy. W ramach trzeciego doświadczenia Doktorantka uzyskała ciekawe wyniki wykazujące, że podanie endotoksyny LPS obniża stężenie melatoniny tylko w warunkach dnia długiego, natomiast nie wpływa na sekrecję tego hormonu w okresie dnia krótkiego. Ponadto przeprowadzone badania wykazały, że stan zapalny hamując ekspresję GnRHR w eksplantach pobranych w okresie nocy od owiec będących w fazie pęcherzykowej, może prowadzić do obniżenia sekrecji LH. Przeprowadzone badania dostarczyły kolejnych istotnych informacji dotyczących uwarunkowań immunologiczno-endokrynologicznych u zwierząt wrażliwych na zmiany długości dnia.

W podsumowaniu Doktorantka opisała syntetycznie uzyskane wyniki badań. Szkoda, że nie odniosła wniosków do każdego z realizowanych doświadczeń, a tylko zawarła opis formie jednego wniosku.

Przedstawiona do oceny praca doktorska Pani mgr Karoliny Wojtulewicz stanowi oryginalne osiągnięcie naukowe. Dobrze zaplanowane i konsekwentnie realizowane doświadczenia. Koncepcja pracy oparta na nowoczesnych metodach analitycznych. Przygotowany manuskrypt oraz publikacje świadczą o dużym zaangażowaniu Doktorantki w realizację badań i przygotowanie rozprawy doktorskiej.

Konkluzja

Rozprawę doktorską nt. „Wpływ fotoperiodu i stanu zapalnego na aktywność sekrecyjną części guzowatej przysadki samicy owcy” oceniam pozytywnie. Podjęty przez Doktorantkę temat jest istotny pod względem naukowym i aplikacyjnym. Na szczególną uwagę zasługuje fakt, że badania przeprowadzone przez Pani mgr Karolinę Wojtulewicz były bardzo pracochłonne i wymagały dużej wiedzy, umiejętności i doświadczenia naukowego. Zapewne wymagały współpracy w szerszym zespole, naukowym pod opieką Promotora Pana dr hab. inż. Andrzeja Hermana, prof. nadzw. IFiZZ.

Z pełnym przekonaniem stwierdzam, że przedstawiona do recenzji rozprawa doktorska nt. „Wpływ fotoperiodu i stanu zapalnego na aktywność sekrecyjną części guzowatej przysadki samicy owcy” i indywidualny wkład Doktorantki w przygotowanie rozprawy spełniają wymogi określone w Ustawie z dnia 14 marca 2003 roku „O stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki” (dz. U. Nr. 65, poz.595, z późniejszymi zmianami) i zwracam się do wysokiej Rady Naukowej Instytutu Fizjologii i Żywienia Zwierząt Polskiej Akademii Nauk, Jabłonna, o przyjęcie rozprawy doktorskiej Pani mgr Karoliny Wojtulewicz i dopuszczenie Doktorantki do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Z poważaniem


Dr hab. Edyta Molik

Kraków 4.09.2018