

Prof. dr hab. inż. Anna Hrabia
Katedra Fizjologii i Endokrynologii Zwierząt
Wydział Hodowli i Biologii Zwierząt
Uniwersytet Rolniczy w Krakowie
Al. Mickiewicza 24/28, 30-059 Kraków
Tel.: 662-40-47; anna.hrabia@urk.edu.pl

Kraków, 07.07.2020 r.



Recenzja rozprawy doktorskiej
mgr Aleksandry Złotkowskiej
pod tytułem

"Udział chemokin w przebudowie błony śluzowej macicy świni"

Przedłożona do oceny rozprawa doktorska wykonana pod kierunkiem Pani dr hab. Anety Andronowskiej, profesora instytutu, dotyczy aktualnego problemu naukowego i aplikacyjnego jakim jest poznanie roli chemokin w komunikacji pomiędzy matką a zarodkiem oraz ich zaangażowanie w przebudowę błony śluzowej macicy świni w okresie wczesnej ciąży. Rozprawa składa się z dwóch części. Pierwsza (41 stron) w języku polskim, stanowi syntetyczny opis dokonań Doktorantki i obejmuje streszczenie w języku polskim i angielskim, wykaz stosowanych skrótów, wstęp, hipotezę, cel i zadania badawcze, materiał i metody, wyniki, dyskusję, wnioski i bibliografię. Druga część to reprodukcje trzech publikacji wchodzących w skład rozprawy doktorskiej. Badania zrealizowano z funduszy statutowych Instytutu Rozrodu Zwierząt i Badań Żywności Polskiej Akademii Nauk w Olsztynie.

We wstępie Autorka jasno wprowadza czytelnika w temat omawiając specyfikę komunikacji między zarodkiem a błoną śluzową macicy w okresie okołoinplantacyjnym u świni, kompozycję komórek układu immunologicznego w błonie śluzowej macicy świni w okresie macicznego rozpoznania ciąży i implantacji zarodka oraz charakterystykę chemokin i ich receptorów.

Następnie dokonuje przeglądu dotychczasowej wiedzy na temat udziału chemokin w prawidłowym przebiegu ciąży dając podstawy do sprecyzowania hipotezy badawczej zakładającej, że "chemokiny produkowane przez obecne w świetle macicy zarodki, jak również wydzielane przez komórki błony śluzowej macicy oddziałują przez swoje receptory zlokalizowane na komórkach nabłonka powierzchniowego, zrębu oraz śródbłonka naczyń i kontrolują zmiany zachodzące w błonie śluzowej macicy w okresie okołomplantacyjnym", a także uzasadnienia celu podjętych badań. Celem przeprowadzonych badań było określenie roli chemokin w przebudowie błony śluzowej macicy w okresie implantacji zarodka. Do realizacji wyznaczonego celu zaplanowano 6 zadań badawczych.

Ambitne założenia pracy zostały zrealizowane przez Autorkę z sukcesem. W badaniach *in vivo* i *in vitro* zastosowano szeroki wachlarz nowoczesnych i pracochłonnych metod badawczych w tym immunoenzymatyczną do oznaczenia stężenia chemokiny CXCL12, immunohistochemiczną z diaminobenzidyną i immunofluorescencyjną do określenia lokalizacji szeregu chemokin i ich receptorów, Western blot do oznaczania ekspresji białka i PCR w czasie rzeczywistym do oznaczenia ekspresji genów na poziomie mRNA, a także izolację komórek nabłonka powierzchniowego, zrębu i śródbłonka naczyń oraz analizy proliferacji, adhezji i migracji komórek. Doświadczenia zostały bardzo starannie zaplanowane i wykonane, a metodyka badań została precyzyjnie opisana w rozdziale Materiały i Metody. Równie przejrzysto i czytelnie jak metody badawcze przedstawiono najważniejsze wyniki badań, które zostały przedyskutowane z informacjami zawartymi w aktualnym światowym piśmiennictwie. Na podstawie uzyskanych wyników wyciągnięto 7 wniosków, z których szczególnie ostatni jasno odpowiada na postawiony cel pracy. Należy podkreślić, że uzyskane wyniki mają nie tylko wartość poznawczą, ale także mają znaczenie praktyczne dla hodowców trzody chlewnej.

Wchodzące w skład rozprawy trzy oryginalne publikacje naukowe zostały opublikowane w prestiżowych czasopismach, tj. *Theriogenology*, *Scientific Reports* i *Domestic Animal Endocrinology*, co świadczy o ich wysokim poziomie naukowym. Sumaryczna liczba punktów według listy MNiSW z grudnia 2019 r. wynosi 350, a łączny IF = 8,601. Wszystkie prace są dwuautorskie, a Pani mgr Aleksandra Złotkowska jest pierwszym autorem. Jej udział w przygotowaniu publikacji jest wiodący co potwierdzają stosowne oświadczenia.

Ze względu na fakt, że przedstawione do recenzji prace były już oceniane przez co najmniej sześciu recenzentów oceniam je w aspekcie poznawczym i jako wkład w rozwój dyscypliny naukowej.

W pierwszej publikacji badano ekspresję dziesięciu chemokin i ich siedmiu receptorów na poziomie mRNA i białka w trofoblaście i błonie śluzowej macicy świni w okresie okołoinplantacyjnym, lokalizowano immunohistochemicznie badane białka w tkankach oraz określano *in vitro* wpływ interferonu gamma i estradiolu na ekspresję wybranych chemokin w różnych typach komórek. Wykazano między innymi zależny od fazy cyklu rujowego bądź zaawansowania ciąży profil ekspresji chemokin i ich receptorów w błonie śluzowej macicy oraz stymulujący wpływ interferonu, czynnika z trofoblastu, na ekspresję niektórych chemokin w komórkach endometrium.

W drugiej pracy udokumentowano, że chemokiny zwiększają proliferację (CCL2, CCL4, CCL5, CCL8, CXCL2, CXCL8, CXCL9, CXCL10, CXCL12) i migrację (CCL8) izolowanych komórek nabłonka powierzchniowego błony śluzowej macicy świni. Ponadto, stymulują (CXCL12) lub obniżają (CCL8) zdolność adhezji tych komórek.

W kolejnej pracy wykazano między innymi, że chemokiny stymulują proliferację (CCL2, CCL4, CCL5, CCL8, CXCL2, CXCL8, CXCL9, CXCL10, CXCL12) i migrację (CCL2, CXCL12) komórek zrębu macicy świni. Stwierdzono również, że chemokiny wpływają na proliferację (CCL4, CCL8,

CXCL2, CXCL8) oraz migrację (CCL4, CCL8) komórek śródbłónka, a także obniżają zdolność komórek śródbłónka do tworzenia struktur kapilaropodobnych (CXCL8, CXCL10, CXCL12).

Uzyskane dane wnoszą nowe informacje, pozwalające lepiej zrozumieć relacje pomiędzy błoną śluzową macicy i zarodkiem oraz rolę chemokin w tych zależnościach u świni w okresie okołoinplantacyjnym. Uzyskane wyniki wskazują również na udział chemokin w mechanizmach związanych z remodelingiem błony śluzowej macicy świni.

Podsumowując, przedstawioną do oceny rozprawę oceniam bardzo wysoko. Jest ona obszernym i wszechstronnym opracowaniem zawierającym oryginalne wyniki co potwierdza ich opublikowanie w bardzo dobrych czasopismach naukowych o wysokim IF. Autorka wykazała duże predyspozycje i umiejętność wykorzystywania różnorodnych technik badawczych, znajomość przedmiotowego piśmiennictwa, opracowania i prezentacji wyników, poprawnego wnioskowania i przygotowywania publikacji do druku co predysponuje Ją do dalszej pracy naukowej.

Z pełnym przekonaniem uważam, że przedstawiona do oceny rozprawa doktorska i indywidualny wkład Kandydatki w powstanie tej pracy spełnia warunki określone w art. 179 ust. 2 i 3 Ustawy z dnia 3 lipca 2018r. –Przepisy wprowadzające- Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz.U. z 2018 r., poz. 1669), w zw. Z art. 20 ust. 5 Ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki” (Dz. U. z 2003 r. Nr 65, poz. 595, z późniejszymi zmianami) i przedkładam Wysokiej Radzie Naukowej Instytutu Rozrodu Zwierząt i Badań Żywności Polskiej Akademii Nauk w Olsztynie wnioszek o dopuszczenie mgr Aleksandry Złotkowskiej do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Ze względu na wysoką wartość merytoryczną pracy, oryginalność uzyskanych wyników i opublikowanie ich w czasopiśmie o światowym zasięgu uważam, że praca zasługuje na wyróżnienie.

Ae Hl