

Wrocław, dn. 15.08.2024

dr hab. Alicja Kowalczyk, prof. UPWr
Katedra Higieny Środowiska i Dobrostanu Zwierząt
Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu



Recenzja rozprawy doktorskiej mgr inż. Agnieszki Walentyny Jończyk

pt. „Wpływ egzogennej $PGF_{2\alpha}$ na szlaki regulacyjne angiogenezy, steroidogenezy i śmierci komórek ciała żółtego krwi w zależności od sposobu jej podania: lokalnie i obwodowo”.

wykonanej w Instytucie Rozrodu Zwierząt i Badań Żywności Polskiej
Akademii Nauk w Olsztynie

pod kierunkiem naukowym promotora **prof. dr hab. n. wet. Dariusza
Jana Skarzyńskiego**

oraz promotora pomocniczego **dr n. wet. Katarzyny Karoliny
Piotrowskiej-Tomali**

1. Podstawa formalno-prawna opracowania recenzji

Podstawą formalno-prawną wykonania niniejszej recenzji jest pismo Dyrektora Instytutu Rozrodu Zwierząt i Badań Żywności Polskiej Akademii Nauk w Olsztynie prof. dr hab. Mariusza Piskuly, czł. koresp. PAN (z dnia 24-06-2024) oraz rozprawa doktorska mgr inż. Agnieszki Jończyk.

Podstawę prawną stanowi Ustawa z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach i tytule naukowym oraz stopniach i tytule naukowym w zakresie sztuki (Dz. U. Nr 65, poz. 595, art. 13.1 z późn. zm.) oraz Przepisy wprowadzające ustawę – Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce z dnia 3 lipca 2018 r. (Dz. U. z 2018 r. poz. 1669).

2. Uzasadnienie wyboru tematu rozprawy doktorskiej

Ciało żółte odgrywa kluczową rolę w regulacji cyklu estralnego u krów poprzez produkcję progesteronu, hormonu niezbędnego do utrzymania ciąży. Badania nad wpływem egzogennej prostaglandyny $F_{2\alpha}$ ($PGF_{2\alpha}$) na szlaki regulacyjne angiogenezy, steroidogenezy i śmierci komórek ciała żółtego u krowy z uwzględnieniem różnych metod jej podania, są niezbędne dla lepszego zrozumienia procesów reprodukcyjnych i optymalizacji zarządzania hodowlą.

$PGF_{2\alpha}$ jest znanym luteolitykiem i jest kluczowym czynnikiem inicjującym apoptozę w komórkach ciała żółtego prowadząc do jego regresji i aktywując spadek poziomu progesteronu, wywołując tym samym powrót samicy do cyklu estralnego. Badania nad wpływem różnych dróg podania $PGF_{2\alpha}$ na apoptozę, mogą dostarczyć cennych informacji na temat kontroli długości życia ciała żółtego. Z kolei zrozumienie wpływu egzogennej $PGF_{2\alpha}$ na ten proces może pomóc w kontrolowaniu poziomu hormonów i poprawie wskaźników reprodukcyjnych. Co więcej analiza działania $PGF_{2\alpha}$ na angiogenezę może wyjaśnić, jak ten związek wpływa na ukrwienie i

dostarczanie składników odżywczych do ciała żółtego, co hipotetycznie może mieć bezpośrednie przełożenie na jego funkcję i trwałość.

Podsumowując zrozumienie mechanizmów działania $\text{PGF}_{2\alpha}$ na poziomie komórkowym i molekularnym może istotnie przyczynić się do optymalizacji zarządzania reprodukcją u krów, co jest niezwykle ważne z ekonomicznego punktu hodowli tego gatunku.

3. Ogólna charakterystyka i ocena formalna pracy

Podstawą przygotowania rozprawy były trzy następujące opublikowane oryginalne prace twórcze:

- **praca badawcza I**

Jonczyk AW, Piotrowska-Tomala KK, Kordowiczki P, Skarzynski DJ. (2019a) Effects of prostaglandin $\text{F}_{2\alpha}$ on angiogenic and steroidogenic pathways in the bovine corpus luteum may depend on its route of administration. *Journal of Dairy Science*. 102(11):10573-10586. doi: 10.3168/jds.2019-16644

IF2019 = 3,333 MEiN2019 = 200

- **praca badawcza II**

Jonczyk AW, Piotrowska-Tomala KK, Skarzynski DJ. (2019b) Effects of prostaglandin $\text{F}_{2\alpha}$ (PGF $_{2\alpha}$) on cell-death pathways in the bovine corpus luteum. *BMC Veterinary Research* 21;15(1):416. doi: 10.1186/s12917-019-2167-3.

IF2019 = 1,835 MEiN2019 = 140

- **praca badawcza III**

Jonczyk AW, Piotrowska-Tomala KK, Skarzynski, DJ. (2022) Comparison of intra-CL injection and peripheral application of prostaglandin $\text{F}_{2\alpha}$ analog on luteal blood flow and secretory function of the bovine corpus luteum. *Frontiers in Veterinary Science*. 8: art. no 811809 (1-12) (10.3389/fvets.2021.811809).

IF2022 = 3,2 MEiN2022 = 70

Prace wchodzące w skład dysertacji doktorskiej opublikowane zostały w czasopismach indeksowanych w *Journal Citation Reports*, o łącznej liczbie 410 punktów (według obowiązującej w dniu publikacji klasyfikacji Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego) oraz sumarycznej wartości czynnika wpływu (Impact Factor) równej 8.368. Udział merytoryczny Kandydatki do stopnia doktora w powstaniu prac był wiodący i wynosi co najmniej 50%, na który składa się uczestnictwo w powstaniu koncepcji pracy i opracowaniu założeń metodycznych oraz wykonanie analiz laboratoryjnych, opis i interpretacja wyników badań, redagowanie manuskryptu, a także udział w korekcie tekstów po recenzjach. We wszystkich publikacjach Doktorantka jest pierwszym autorem. Prace te pomyślnie przeszły przez procedury ewaluacyjne w redakcjach poszczególnych czasopism.

W moim przekonaniu, stanowi to podstawę do uznania w/w cyklu publikacji powiązanych tematycznie jako dysertacji doktorskiej mgr. inż. Agnieszki Jończyk.

Przedłożony do oceny maszynopis składa się z następujących części:

Spisu treści, streszczenia w jęz. polskim i angielskim, wykazu stosowanych skrótów, omówienia rozprawy doktorskiej w języku polskim (obejmującej następujące rozdziały: wstęp, będący przeglądem literatury tematu; hipoteza badawcza; cel pracy; zadania badawcze; część

doświadczalną ze szczegółowo opisaną metodyką badań i stosowanych procedur; wyniki; omówienie wyników i dyskusja; znaczenie wyników pracy badawczej; podsumowanie i wnioski; bibliografia), oświadczeń o procentowym wkładzie poszczególnych współautorów prac badawczych wchodzących w skład rozprawy doktorskiej oraz kopie oryginalnych prac badawczych. Układ rozprawy doktorskiej jest typowy dla prac o charakterze doświadczalnym.

4. Ocena merytoryczna rozprawy doktorskiej

Tytuł pracy koresponduje z wyznaczonym celem i treścią rozprawy. Wstęp stanowi dobre wprowadzenie w tematykę przeprowadzonych doświadczeń, przedstawiając ogólny kontekst oraz tło badań. Doktorantka podkreśla, z jakiego powodu dany problem badawczy jest istotny i w jaki sposób wpisuje się w szerszą dziedzinę nauki. Przeglądu literatury dokonano na podstawie aktualnych i ważnych publikacji, który stanowi dobry asumpt do zaplanowanych badań, nakreślając w zarysie najważniejsze kwestie związane z tematem pracy. Niemniej jednak, moim zdaniem jako recenzenta, dobrze byłoby we wstępie, krótko wyjaśnić rolę różnych czynników wzrostu, takich jak VEGF (czynnik wzrostu śródbłónki naczyniowej) i ich receptorów w angiogenezie ciała żółtego. We wstępie znalazła się o tym zaledwie wzmianka.

W kolejnym rozdziale Doktorantka prawidłowo formułuje hipotezę oraz cel badań, formułuje również poszczególne zadania badawcze. Pani magister Jończyk obszernie i czytelnie przedstawiła materiał oraz metody związane z realizacją prac badawczych, wzbogacając je o cztery ciekawe i bogato ilustrowane schematy, które w znacznym stopniu ułatwiają zrozumienie sposobu pobierania materiału oraz wykonania analiz.

Rozdziały Wyniki oraz Omówienie wyników i dyskusja są najobszerniejszą częścią pracy, w której Autorka w sposób szczegółowy zaprezentowała wyniki badań własnych i dokonała ich omówienia na tle wyników badań innych badaczy. W tym miejscu z racji obowiązków recenzenta mam dwa krótkie komentarze. Mianowicie (1) przedstawienie wyników w dwóch różnych rozdziałach nie jest typowe, czasem utrudnia skupienie i analizę treści, warto byłoby zdecydować się, albo na osobne rozdziały Wyniki, Dyskusja, albo na jeden Wyniki i ich omówienie. W tej prezentacji Autorka postanowiła podzielić omówienie wyników najpierw dla każdego eksperymentu osobno, a następnie w odniesieniu do całości poruszanego zagadnienia. Cała problematyka dysertacji to jednak cykl dążący do rozwiązania jakiegoś problemu badawczego; (2) czytając omówienie wyników mam pewien niedosyt dotyczący części badań poświęconych przepływowi krwi do ciała żółtego, zwłaszcza w kontekście wyjaśnienia znaczenia tego przepływu dla funkcji endokrynnej ciała żółtego i wpływu na cykl rujowy krowy. Co nowego Autorka badania zaobserwowała w porównaniu do innych, dostępnych wyników doświadczeń innych badaczy?

Układ i sekwencja następujących po sobie eksperymentów jest logiczna i dobrze przemyślana. Tytuły rozdziałów są czytelne i oddają w pełni informację dotyczącą przeprowadzonych analiz.

Godnym podkreślenia jest natomiast bardzo szeroki zakres badań i ich pracochłonność. Badania są przemyślane i konsekwentnie realizowane, a kolejne etapy wynikają z poprzednich, co jest m.in. związane z koniecznością ustalania warunków dalszych analiz.

W rozdziale Podsumowanie i wnioski Doktorantka przedstawiła 4 wnioski ogólne dotyczące najważniejszych osiągnięć wynikających z przeprowadzonych badań. Świadczą one o realizacji wyznaczonego przez Autorkę celu badań. W mojej opinii wypunktowane „najważniejsze

osiągnięcia niniejszej pracy (...) będące podsumowaniem najistotniejszych osiągnięć Pani magister Jończyk powinny być integralną częścią rozdziału Znaczenie wyników pracy badawczej (jeszcze lepiej Podsumowanie i znaczenie wyników pracy badawczej), a nie – Podsumowaniem i wnioskami, zwłaszcza, że wnioski Autorka formułuje w czterech punktach bez jakiegokolwiek podsumowania w postaci na przykład wskazania dalszych kierunków badań nad ciałkiem żółtym. Brakuje mi również wyeksponowania jednego wniosku, mającego charakter aplikacyjny, wynikającego z przeprowadzonych doświadczeń, a dotyczącego najkorzystniejszego rozwiązania w kontekście stosowania (drogi, dawki i czasu podania) analizowanego środka hormonalnego.

W dysertacji wykorzystano 89 pozycji, wyłącznie anglojęzycznych. Znaczna część zamieszczonej literatury to oryginalne artykuły badawcze. Na uwagę zasługuje trafny dobór źródeł oraz ich aktualność, jak również fakt, że Doktorantka wykorzystywała prace pochodzące zarówno z lat wcześniejszych (1979, 1993, 1997 rok...), jak te najbardziej aktualne. Świadczy to o dobrym rozeznaniu literaturowym Autorki rozprawy.

Proporcje poszczególnych części dysertacji są adekwatne do charakteru doświadczeń, a uzyskane wyniki zinterpretowano i przedyskutowano prawidłowo. Od strony formalnej praca nie budzi zastrzeżeń.

Raz jeszcze podkreślę, że oceniana dysertacja wykonana jest starannie i napisana została poprawnie pod względem językowym i merytorycznym, a moje drobne uwagi jako recenzenta mają charakter dyskusji i nie umniejszają wartości ocenianej przez mnie pracy.

Odnosząc się do przeprowadzonych przez Doktorantkę badań i bardzo ciekawych wyników własnych, podczas publicznej obrony pracy doktorskiej prosiłabym o ustosunkowanie się do poniższych kwestii:

- W doświadczeniu trzecim wykazała Pani, że u krów w 4 dniu cyklu rujowego podanie $\text{PGF}_{2\alpha}$ w iniekcji bezpośredniej do CL spowodowało wzrost ekspresji FGF2 na poziomie mRNA i białka oraz podanie $\text{PGF}_{2\alpha}$ w iniekcji bezpośredniej do CL wywołało wzrost ekspresji FGFR1 na poziomie mRNA i białka oraz ekspresji FGFR2 na poziomie mRNA. Zabrakło mi w dyskusji pewnego wyjaśnienia, a może tła do tych obserwacji jaka jest rola mikroRNA i innych regulatorów epigenetycznych w procesach regulacji angiogenezy, steroidogenezy i apoptozy w ciałku żółtym?
- Czy projektując badania uwzględniła Pani możliwe interakcje między różnymi typami komórek w ciałku żółtym, w tym komórkami śródbłonna, fibroblastami i komórkami immunologicznymi?
- Czy i w jaki sposób mikrośrodowisko ciała żółtego może wpływać na regulację angiogenezy, steroidogenezy i apoptozy w odniesieniu do prezentowanych przez Panią wyników badań?
- Jakie są możliwości i jednocześnie ograniczenia wykorzystania uzyskanych wyników? Czy ma Pani może jakieś dalsze plany naukowe, poszerzające zrealizowane już badania?

5. Podsumowanie i wniosek końcowy

Podsumowanie

Przedstawiona do recenzji rozprawa doktorska mgr inż. Agnieszki Walentyny Jończyk wpisuje się w nurt badań dotyczących dynamiki zmian w ciałku żółtym w odpowiedzi na egzogenną $\text{PGF}_{2\alpha}$ podaną różnymi drogami. Podjęty problem badawczy ma duże znaczenie, zarówno w wymiarze poznawczym, jak i aplikacyjnym.

Wniosek końcowy

Przedstawiona do oceny rozprawa doktorska mgr inż. Agnieszki Walentyny Jończyk pt. *„Wpływ egzogennej $\text{PGF}_{2\alpha}$ na szlaki regulacyjne angiogenezy, steroidogenezy i śmierci komórek ciała żółtego krwi w zależności od sposobu jej podania: lokalnie i obwodowo”* zrealizowanej pod kierunkiem prof. dr hab. n. wet. Dariusza Jana Skarżyńskiego oraz dr n. wet. Katarzyny Karoliny Piotrowskiej-Tomali w pełni odpowiada wymogom stawianym rozprawom doktorskim w myśl Ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach i tytule naukowym oraz stopniach i tytule naukowym w zakresie sztuki (Dz. U. Nr 65, poz. 595, art. 13.1 z późn. zm.). Doktorantka wykazała się dobrą znajomością tematu, zrealizowała postawione sobie cele badawcze i umiejętnie zinterpretowała uzyskane wyniki, wnosząc nowe dane do nauki o reprodukcji ssaków. W związku z powyższym zwracam się do Rady Naukowej Instytutu Rozrodu Zwierząt i Badań Żywności Polskiej Akademii Nauk w Olsztynie o dopuszczenie Pani mgr inż. Agnieszki Walentyny Jończyk do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

