

Poznań 31 sierpnia 2017 r.

Dr hab. Paweł Antosik

Instytut Weterynarii

Wydział Medycyny Weterynaryjnej i Nauk o Zwierzętach

Uniwersytet Przyrodniczy

w Poznaniu

OCENA

pracy doktorskiej Pani magister Patrycji Magdaleny Młotkowskiej pt. „Ekspresja wybranych akwaporyn w komórkach pęcherzyka jajnikowego świni domowej (*Sus scrofa f. domestica*)”.

Praca została wykonana w Katedrze Fizjologii Zwierząt Wydziału Biologii i Biotechnologii Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego w Olsztynie pod kierunkiem dr hab. n. wet. Mariusza Skowrońskiego, prof. UWM i była finansowana w ramach projektu badawczego OPUS przez Narodowe Centrum Nauki, 2013/09/B/NZ9/03129.

Formalna ocena pracy

Przedstawiona do oceny praca liczy 93 strony druku, w tym 24 ryciny oraz 146 pozycji piśmiennictwa. Układ pracy jest typowy z zachowaniem właściwych wzajemnych proporcji zgodny z wymogami stawianymi tego typu pracom. Napisana została poprawnym językiem oraz o prawidłowej stylistyce i gramatyce. We wstępie Doktorantka w przejrzysty sposób przedstawia stan współczesnej wiedzy na temat roli, budowy oraz regulacji dotyczących białek błonowych akwaporyn. Omawiając ich znaczenie w transporcie selektywnym wody dokonuje ich podziału i szczegółowo opisuje ich rolę, szczególnie w układzie rozrodczym żeńskim. Dodatkowo autorka charakteryzuje regulacje rozwoju pęcherzyka jajnikowego w cyklu płciowym jak i we wczesnych etapach ciąży, przedstawia również stan aktualnej wiedzy na temat roli akwaporyn w pęcherzyku jajnikowym u świń zgromadzoną na podstawie wcześniejszych badań prowadzonych przez zespół Pana prof. Skowrońskiego. Zwięzłe dane zawarte we wstępie stanowią bardzo dobre wprowadzenie dla przedstawienia celów pracy, które zmierzają do uzyskania odpowiedzi na postawione pytania: czy **hormony wpływające**

na proces steroidogenezy w pęcherzykach jajnikowych tj. FSH, LH, PRL i GH uczestniczą także w regulacji ekspresji mRNA i białka AQP1, 5 i 9 i mają wpływ na ich działanie oraz czy zastosowane w badaniach hormony mogą wpływać na dystrybucję akwaporyn w komórkach pęcherzyka jajnikowego. Chcąc odpowiedzieć na te pytania Doktorantka wyznacza sobie cele szczegółowe. Rozdział materiał i metody jest podzielony na podrozdziały i zawiera szczegółowy opis stosowanych metod i prowadzonych analiz. Podobny układ zachowano w rozdziale wyniki, co czyni pracę przejrzystą. Rozdział dyskusja to analiza i interpretacja uzyskanych wyników. Rozprawę kończy 13 wniosków.

Merytoryczna ocena pracy

Woda odgrywa ważną rolę w prawidłowym funkcjonowaniu wszystkich organizmów żywych, jest niezbędnym czynnikiem warunkującym procesy życiowe. W jeden z mechanizmów regulujących jej przepływ na poziomie komórki są zaangażowane integralne białka nazywane od 1993 roku akwaporynami. Białka te występują w błonach komórkowych kręgowców i bezkręgowców oraz roślin. W tkankach ssaków dotychczas stwierdzono obecność trzynastu takich białek. Niewiele jednak do tej pory odnotowano doniesień na temat ich roli i regulacji w procesie dojrzewania pęcherzyka jajnikowego u świni domowej. Niektórzy autorzy sugerują, iż gromadzenie płynu w jamie wzrastającego pęcherzyka związane jest właśnie z obecnością tych białek. W tym zakresie temat i cel przedstawionej pracy znakomicie może wypełnić lukę w wiedzy, w tym obszarze. Proponowany układ doświadczenia tzn. liczba zwierząt i podział na grupy nie budzą zastrzeżeń. Na uwagę zasługuje fakt, iż Doktorantka w sposób świadomy i zaplanowany użyła wielu technik stosowanych w biologii molekularnej, co uwiarygodnia uzyskane wyniki. Zaplanowanie badań w różnych konfiguracjach pozwoliło uzyskać obfitą ilość wyników do interpretacji, które szczegółowo omówiono w dyskusji, a ta z kolei pozwoliła na postawienie ciekawych wniosków. Badania te zostały zaakceptowane przez Lokalną Komisję Etyczną do Spraw Doświadczeń na Zwierzętach w Olsztynie.

Na szczególne podkreślenie zasługują jednak następujące spostrzeżenia Doktorantki:

- wykazanie po raz pierwszy wpływu FSH na ekspresję genu i białka AQP1 w wyizolowanych komórkach ziarnistych ze średnich i dużych pęcherzyków jajnikowych,
- wykazanie wpływu PRL na ekspresję genu i białka AQP5 w komórkach ziarnistych w pęcherzykach dużych,

- wykazanie pobudzającego wpływu GH na ekspresję białka AQP1 w komórkach ziarnistych dużych pęcherzyków,
- wykazanie przy udziale blokera akwaporyn (PMB), iż w środowisku hipotonicznym objętość komórek ziarnistych i osłonki wewnętrznej ze średnich i dużych pęcherzyków zwiększała się pod wpływem FSH, LH, PRL i GH.

W mojej opinii powyższe osiągnięcia ocenianej pracy pozwalają stwierdzić, że Doktorantka wykazała się dobrym opanowaniem warsztatu badawczego, zrozumieniem rozpatrywanego problemu oraz dobrą znajomością piśmiennictwa z tematyki prowadzonych badań.

Pytania i zagadnienia wymagające doprecyzowania:

- strona 19: brak wyraźnie sprecyzowanego celu pracy, który został przedstawiony jako hipoteza badawcza (cel na stronie 65, pierwszy akapit),
- czy i w jaki sposób oceniano przed doświadczeniem stan zdrowia zwierząt?
- w jakim systemie utrzymywane były zwierzęta doświadczalne?
- czy loszki były synchronizowane, jeśli tak to w jaki sposób?
- w jaki sposób kontrolowano zewnętrzne objawy rui?
- w jaki sposób zostały określone dni ciąży?
- strona 24, pobieranie pęcherzyków jajnikowych – brak opisu systemu klasyfikacji pęcherzyków jajnikowych ze względu na wielkość, na który autorka powołuje się w dalszej części pracy,
- co skłoniło autorkę do umieszczenia wyników, a następnie ich omówienia w dyskusji dotyczących obecności badanych białek w śródbłonku naczyń krwionośnych skoro nie było to celem pracy?
- w związku z powyższym drugi wniosek nie powinien być zamieszczony jako wniosek dotyczący przedmiotu badań,
- proponuję do publikacji skrócenie liczby wniosków do maksymalnie pięciu, w mojej opinii na szczególną uwagę zasługują wnioski nr 1,6,7,10,11.

Wymienione powyżej uwagi nie obniżają jednak wartości merytorycznej pracy, a jedynie stanowią pole do dyskusji.

Mocne strony pracy

- aktualna tematyka
- bogaty warsztat badawczy
- dobra znajomość u Doktorantki tematyki badawczej
- silny zespół
- duża ilość wykonanych analiz z uwzględnieniem wielu czynników
- nowe i ciekawe wyniki.

Podsumowanie

Podsumowując pragnę podkreślić, iż przedstawiona do oceny praca Pani mgr Patrycji Magdaleny Młotkowskiej to kolejny krok przybliżający nas do poznania mechanizmów zachodzących w pęcherzyku jajnikowym zarówno podczas cyklu płciowego, jak i wczesnych etapów ciąży u świni domowej. Poszerzenie wiedzy na temat roli akwaporyn i wpływu na nie wielu czynników biorących udział w steroidogenezie w mojej opinii może stać się w przyszłości przyczółkiem dla lepszego rozumienia, a co za tym idzie rozpoznawania procesów patologicznych w obrębie jajnika u świni.

Wniosek końcowy

Stwierdzam, że przedstawiona do oceny dysertacja doktorska Pani mgr Patrycji Magdaleny Młotkowskiej pt. „Ekspresja wybranych akwaporyn w komórkach pęcherzyka jajnikowego świni domowej (*Sus scrofa f. domestica*)”, spełnia wymogi ustawy 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 ze zm. Dz. U. z 2005 r., Nr 194, poz.1365). W związku z powyższym zwracam się do Wysokiej Rady Wydziału Biologii i Biotechnologii UWM w Olsztynie z wnioskiem o dopuszczenie Pani mgr Patrycji Magdaleny Młotkowskiej do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Dr hab. Paweł Antosik

