

Warszawa, 05.09.2020

dr hab. Małgorzata Gajewska, prof. SGGW
Zakład Biochemii i Dietetyki
Katedra Nauk Fizjologicznych
Instytut Medycyny Weterynaryjnej
SGGW w Warszawie

RECENZJA

rozprawy doktorskiej mgr inż. Moniki Jamiół pt. „Wpływ dekoryny, progesteronu i prostaglandyny $F_{2\alpha}$ na adhezję komórek endometrium ciężarnej macicy krów” wykonanej w Katedrze Biochemii na Wydziale Medycyny Weterynaryjnej Uniwersytetu Przyrodniczego w Lublinie pod kierunkiem promotora prof. dr hab. Marty Kankofer oraz promotora pomocniczego dr Jacka Wawrzykowskiego.

Długoletnia praca hodowlana nad poprawą wydajności bydła doprowadziła do obniżenia płodności u tego gatunku oraz istotnego zmniejszenia wskaźnika wycieleń. Dodatkowo, zatrzymanie błon płodowych u krów, będące zaburzeniem ostatniej fazy porodu, negatywnie rzutuje na stan ogólny zwierząt, ich produkcję mleczną oraz przebieg okresu poporodowego, szczególnie w odniesieniu do dalszej płodności. Zaburzenia te wpływają negatywnie na ekonomię hodowli bydła oraz przemysł przetwórstwa mlecznego. Warunkiem niezbędnym do rozwoju ciąży jest prawidłowy przebieg tworzenia łożyska, ponieważ zadaniem łożyska jest dostarczenie płodowi substancji odżywczych niezbędnych do wzrostu i prawidłowego rozwoju, usunięcie z krwi płodu szkodliwych metabolitów, ochrona immunologiczna płodu oraz produkcja hormonów niezbędnych do prawidłowego przebiegu oraz utrzymania ciąży. U krów, łożysko ze względu na sposób połączenia części płodowej z częścią maczyną, w początkowym okresie ciąży jest synepiteliochorialne, ponieważ nabłonek kosmków łożyska płodowego – trofoblast, styka się bezpośrednio z nabłonkiem macicy. W prawidłowym rozwoju zarodka i łożyska zasadniczą rolę odgrywają hormony ciążowe takie jak progesteron, estrogeny, prostaglandyny, jednak istotne znaczenie mają również interakcje między komórkami oraz oddziaływania komórek nabłonka endometrium z macierzą zewnątrzkomórkową (ECM). Dotychczas niewiele jest informacji na temat molekularnych mechanizmów tych złożonych interakcji pomiędzy komórkami budującymi łożysko a ECM w regulacji adhezji komórek. Niewystarczająca jest również wiedza na temat roli związków wchodzących w skład ECM w przekazywaniu sygnałów od czynników endo- i parakrynych. Dlatego podjęcie przez Panią mgr inż. Monikę Jamiół badań mających na celu ocenę wpływu jednego z proteoglikanów ECM – dekoryny na adhezję łożyskowych komórek nabłonka endometrium izolowanych od krów w różnym okresie ciąży było, zdaniem recenzentki, bardzo zasadne. Co więcej, w pracy podjęto próbę wykazania również oddziaływań molekularnych pomiędzy dekoryną a progesteronem oraz prostaglandyną $F_{2\alpha}$ (PGF $_{2\alpha}$), jak również postawiono sobie za cel zbadanie roli glikozylacji białek w procesie adhezji komórek nabłonka endometrium, co ma ogromną wartość poznawczą.

Rozprawa doktorska mgr inż. Moniki Jamiół została przedstawiona do recenzji w postaci 144-stronicowej wersji drukowanej formatu A4 w sztywnej oprawie. Układ dysertacji jest

tradycyjny i zawiera streszczenia w języku polskim i angielskim, wykaz skrótów, spis treści, wstęp, cel badań, materiały, metody, wyniki, dyskusję, wnioski, piśmiennictwo oraz zamieszczony na końcu pracy wykaz rysunków, tabel i wykresów. Nietypowa jest długość streszczeń w obydwu wersjach językowych. Obydwa streszczenia zajmowały po 2,5 strony, co zdaniem recenzentki czyni je zdecydowanie za długimi z powodu zbyt rozbudowanego wprowadzenia, opisującego patogenezę zatrzymania błon płodowych oraz rolę składników macierzy zewnątrzkomórkowej, uczestniczących w rozwoju łożyska. Zdaniem recenzentki dwa pierwsze akapity powinny zostać znacznie skrócone, aby streszczenia nie zajmowały więcej niż półtorej strony.

Spis cytowanej literatury składa się ze 144 prac, z czego 51 pochodzi z ostatnich 10 lat, a 24 pozycje literaturowe pochodzą z ostatnich 5 lat (w tym 5 prac stanowi dorobek zespołu naukowego w którym pracowała Doktorantka). Praca napisana jest ładnym, przystępnym językiem, jednak występują w niej liczne błędy edytorskie, które sprawiają, że czytelnik ma wrażenie przygotowania w pośpiechu ostatecznej wersji dysertacji. Przykładem mogą być zdania w rozdziale „Dyskusja”, które rozpoczynają się z małej litery (na stronach 103, 108, 117, 122, 123). Nie wpływa to na wartość merytoryczną pracy, która jest bardzo interesująca. W kolejnych akapitach zostanie przedstawiona recenzja poszczególnych części rozprawy doktorskiej Pani Moniki Jamioł.

We wstępie Doktorantka opisuje budowę anatomiczną oraz histologiczną łożyska u krów, rolę ECM w rozwoju łożyska, charakterystykę poszczególnych składników ECM oraz zmiany w składzie macierzy zewnątrzkomórkowej na różnych etapach ciąży. Stosując zasadę opisu „od ogółu do szczegółu” Autroka w dalszej kolejności przedstawia szczegółowe informacje o budowie i funkcji dekoryny, która była przedmiotem jej badań. Ta część wstępu jest szczególnie cenna i została przygotowana z dużą starannością. Zawarte są w niej informacje na temat sekwencji aminokwasowej dekoryny, miejsc glikozylacji oraz budowy glikozaminoglikanów, ekspresji dekoryny w endometrium, łożysku i w innych tkankach u bydła oraz dostępne dane na temat roli tego białka ECM w regulacji adhezji, proliferacji oraz inwazyjności komórek trofoblastu. W kolejnej części wstępu Doktorantka opisuje również rolę progesteronu oraz $PGF_{2\alpha}$ w powstawaniu oraz rozwoju łożyska, szczegółowo przedstawiając proces syntezy i molekularne szlaki oddziaływania tych hormonów na komórki. Recenzentka pragnie zwrócić uwagę na jedno ze zdań w ostatnim akapicie podrozdziału 1.6. dotyczącym $PGF_{2\alpha}$, w którym opisany jest mechanizm regulacji aktywności proliferacyjnej komórek nabłonkowych endometrium przez ten hormon, polegający na zwiększeniu ekspresji cyklin oraz aktywacji kinaz cyklinozależnych. W cytowanym akapicie pojawiają się następujące zdania – *Efekt ten może być uzyskany poprzez zwiększenie ilości specyficznych cyklin (A, B, D, E) i kinaz zależnych od cyklin, w tym: D1, D3/CDK4, CDK6; E2/CDK2; A/CDK2; B/CDK1. Kompleksy te mogą być odpowiedzialne za regulację cyklu komórkowego na etapie faz G1-S i G2-M.* Sformułowanie *mogą być* zostało użyte niepoprawnie. Tworzenie kompleksów cyklin z odpowiednimi dla nich kinazami cyklinozależnymi **nie może, lecz JEST** niezbędne do prawidłowego przebiegu cyklu komórkowego, co zostało już udowodnione w latach 80-tych XX wieku przez Timothy'ego Hunta oraz Paula Nurse'a, laureatów nagrody Nobla z 2001 roku w dziedzinie fizjologii lub medycyny.

Bardzo wartościowym uzupełnieniem treści wstępu są ryciny oraz tabele wkomponowane w tekst, które ułatwiają czytelnikowi zrozumienie omawianych zagadnień. Drobnym niedociągnięciem jest przedstawienie w dysertacji napisanej w języku polskim rysunku 7 zawierającego anglojęzyczne nazewnictwo. Rycina przedstawia schematycznie wpływ dekoryny i

dermatopontyny na adhezję komórek. Podobnie jest z rysunkami 10 i 12, które przedstawiają wyniki badań innych autorów zaczerpnięte wprost z publikacji Nguyena i wsp. (2012) oraz Ulbricha i wsp. (2009) dotyczące odpowiednio: profilu progesteronu i estrogeny w czasie ciąży u krów oraz stężenia $PGF_{2\alpha}$ u nieciążarnych oraz ciężarnych krów. Tu recenzentka chciałaby zauważyć, że zamieszczone na rysunkach 10 i 12 dane są bezpośrednio zaczerpnięte z obcych publikacji, dlatego nie można powiedzieć, że rysunki zostały przygotowane na podstawie tych publikacji.

Cel pracy sformułowany jest właściwie i dobrze oddaje opisywane w dalszej części dysertacji badania. Rozdziały trzeci - Materiały oraz czwarty - Metody zostały przygotowane starannie. Opisy zastosowanych metod oraz technik badawczych pozwalają na odtworzenie prezentowanych w pracy doświadczeń. Po przeczytaniu tych rozdziałów recenzentka ma następujące uwagi do Autorki pracy:

- W podrozdziale 3.3. pt. „Odczynniki” brakuje szczegółowych informacji na temat zastosowanych w pracy doktorskiej przeciwciał swoistych dla cytokeratyny, oraz wimentyny. Dobrze byłoby podać nazwę producenta przeciwciał, numer katalogowy, mógłby być również symbole klonu, jeśli użyte przeciwciała były monoklonalne. Takie informacje podano w przypadku przeciwciał swoistych dla dekoryny, chociaż można je znaleźć dopiero w rozdziale czwartym zatytułowanym „Metody”, w Tabeli 3 na stronie 75. Przy okazji pragnę zauważyć, że zwyczajowo cytokeratyny określa się skrótem CK, a nie Cyt jak podano w ocenianej pracy doktorskiej. Ponadto, cytokeratyny to grupa białek i różne rodzaje nabłonków mają wysoką ekspresję różnych cytokeratyn, np. komórki mioepitelialne posiadają wysoką ekspresję CK5 i CK14, a nabłonkowe wydzielnicze ekspresyjują głównie CK8, CK18 i CK19. Dlatego należało również podać informację czy użyte przeciwciała rozpoznawało antygen charakterystyczny dla całej rodziny cytokeratyn, czy też było swoiste dla konkretnego rodzaju cytokeratyny.
- W rozprawie doktorskiej stosowane jest określenie „samodzielnie wyprowadzone linie komórek nabłonkowych” w odniesieniu do samodzielnie wyizolowanych komórek nabłonka z brodawek macicznych. Zdaniem recenzentki stosowane do doświadczeń komórki nie były wyprowadzonymi liniami komórkowymi, które miałyby cechy linii ustalonych. W takim wypadku, musiałyby dojść do indukowanej transformacji w celu unieśmiertnienia komórek, które były izolowane z tkanek prawidłowych, a nie nowotworowych. Dlatego według recenzentki badania wykonane przez Doktorantkę były prowadzone na pierwotnych hodowlach komórkowych, które w toku badań zostały dobrze scharakteryzowane, a dzięki wielokrotnym pasażom udało się uzyskać kulturę stosunkowo homogeną, bez widocznych komórek o morfologii fibroblastów. Zastosowane w pracy symbole M1, M4, M5, M6 określały w istocie, z której izolacji pochodziły dane komórki, czyli symbole oznaczały kolejność izolacji, a nie nazwy linii komórkowych. Komórki określane symbolami M1 oraz M6 wyizolowane zostały z brodawek macicznych od krów w 4 miesiącu ciąży, zaś komórki określane symbolami M4 oraz M5 wyizolowano z brodawek macicznych od krów w 2 miesiącu ciąży. Chociaż ta informacja jest istotna w przypadku opisanych w pracy wyników dotyczących charakterystyki wyizolowanych komórek (podrozdziały 5.1., 5.2.), to w przypadku wyników określających wpływ wybranych stymulatorów na przeżywalność

komórek (podrozdział 5.3.) oraz ich adhezję (podrozdział 5.4.) nie podano już informacji, na których komórkach przeprowadzono doświadczenia, a jedynie z jakiego okresu ciąży pochodziły bydłce komórki nabłonkowe endometrium (z drugiego, czy czwartego miesiąca).

W kolejnym rozdziale rozprawy doktorskiej Autorka opisuje wyniki przeprowadzonych doświadczeń. Najpierw opisane zostały badania mające na celu scharakteryzowanie komórek wyizolowanych z zewnętrznej warstwy brodawek macicznych pochodzących od krów w 2 i 4 miesiącu ciąży. Na pierwszym etapie hodowli kultury komórkowe były heterogenne i składały się zarówno z fibroblastów, jak i komórek o morfologii nabłonkowej. Tu recenzentka pragnie zwrócić uwagę na pewne błędy w nomenklaturze zastosowanej w celu scharakteryzowania morfologii nabłonków. Na stronie 51 Autorka napisała: „*komórki nabłonkowe utrzymują kontakt ze swoimi komórkami potomnymi poprzez kompleksy nabłonkowe tworzące ciasne połączenia*”. Nie są to prawidłowe sformułowania. Komórki nabłonkowe łączą się ze sobą poprzez następujące połączenia międzykomórkowe: zamykające (tworzące nieprzepuszczalną, integralną barierę); zwierające (zapewniające odporność mechaniczną); komunikacyjne jonowo-metaboliczne (które pozwalają przechodzić cząsteczkom pomiędzy komórkami).

Powyżej szóstego pasażu Doktorantka uzyskiwała już homogenne kultury komórkowe, składające się z komórek o typowej morfologii nabłonków oraz ekspresji cytokeratyny. Wyizolowane komórki posiadały również zdolność syntezy dekoryny, co zostało potwierdzone metodą Western-blot oraz poprzez barwienie immunocytochemiczne. Według recenzentki zdjęcie membrany PVDF na której wykazano obecność glikolizowanej oraz nieglikolizowanej formy dekoryny są wystarczającym dowodem na ekspresję tego proteoglikanu w komórkach nabłonkowych endometrium krów. Wykres 1, przedstawiający wyniki analizy densytometrycznej otrzymanych prążków nie wnosi nic do pracy, ponieważ nie odnosi się w pełni do wyników przedstawionych na rysunku 21. Na wspomnianym wykresie nie podano informacji, w jaki sposób otrzymano prezentowane wartości – czy są to wartości zbiorcze wszystkich prążków pokazanych na membranie PVDF, czy dotyczą wyników dla konkretnej grupy komórek – np. nabłonka izolowanego z brodawek macicznych krów w 2 miesiącu ciąży? Ponieważ ekspresję dekoryny analizowano w lizatach komórkowych zawierających różną ilość białka wyizolowanego z komórek, nasuwa się też pytanie, czy densytometrię wykonano dla wszystkich prób, czy dla prób z wybranego wariantu stężenia białka dozowanego do dołka na żelu akrylamidowym (1; 2; 2,5; 5 lub 7,5 µg)?

Pewne wątpliwości budzi też dobór kontroli pozytywnej podczas barwienia immunocytochemicznego z użyciem przeciwciał swoistych dla wimentyny. Podczas gdy kontrolą pozytywną dla cytokeratyny, charakterystycznej dla nabłonków, były ludzkie komórki ustalonej linii A549 gruczolakoraka płuc pochodzenia nabłonkowego, kontrolę pozytywną dla wimentyny nie stanowiła żadna komercyjnie dostępna linia komórek fibroblastycznych (np. linia BJ prawidłowych ludzkich fibroblastów wyizolowanych ze skóry, lub popularna linia 3T3-L1 mysich fibroblastów zarodkowych), lecz wybrano samodzielnie wyizolowane fibroblasty z hodowli pierwotnych. Recenzentka przyznaje, że rycina 19 D potwierdza, że otrzymane przez Doktorantkę komórki o morfologii fibroblastów wykazywały wysoką ekspresję wimentyny, jednak wynik ten można uznać za istotne potwierdzenie skutecznej separacji bydłczych fibroblastów od komórek

nabłonkowych podczas pasażowania pierwotnych kultur komórkowych, nie zaś za kontrolę pozytywną.

W dalszej kolejności Autorka przechodzi do omówienia wyników doświadczeń stanowiących główny cel jej pracy, a więc do pokazania wpływu dekoryny, progesteronu, $\text{PGF}_{2\alpha}$, jak również wybranych inhibitorów O-glikozylacji (BZ = benzylo-2-acetamido-2-deoksy- α -D-glukopiranozydu) oraz N-glikozylacji (tunikamycyny) na żywotność komórek nabłonka endometrium pochodzących od krów w 2 i 4 miesiącu ciąży oraz ich zdolność do adhezji. Żywotność komórek określano przy użyciu testu MTT, natomiast test adhezji wykonano w oparciu o metodykę opracowaną przez zespół Suzuki i wsp. (2015) posługując się 96-dołkowymi płytkami hodowlanymi pokrytymi fibronektyną. Na początku Doktorantka omawia wyniki doświadczeń, w których czynniki doświadczenia podawane były pojedynczo w wybranych stężeniach, a pod koniec podrozdziału dotyczącego zdolności do adhezji komórek nabłonkowych przedstawione zostały również wyniki doświadczeń, w których komórki były poddane preinkubacji w pożywce z dodatkiem hormonów (progesteronu lub $\text{PGF}_{2\alpha}$), a następnie traktowane były przez kolejne 24 godziny $10 \mu\text{g/ml}$ dekoryny. Doktorantka wykazała istotną poprawę żywotności komórek nabłonka endometrium izolowanych od krów w 2 miesiącu ciąży w przypadku zastosowania progesteronu w wyższych stężeniach oraz $\text{PGF}_{2\alpha}$ we wszystkich użytych stężeniach. Nie obserwowała istotnego wpływu tych hormonów na komórki nabłonkowe izolowane z brodawek macicznych krów w 4 miesiącu ciąży. Z kolei dekoryna istotnie zmniejszała adhezję komórek nabłonkowych pochodzących z łożyska od krów w 2 miesiącu ciąży, pozostając bez wpływu na komórki izolowane od krów w 4 miesiącu ciąży. Komórki nabłonka endometrium od krów w 2 miesiącu ciąży wykazywały również istotne zmniejszenie zdolności do adhezji pod wpływem wyższych stężeń $\text{PGF}_{2\alpha}$, natomiast podanie progesteronu nie wywierało takiego efektu. Bardzo interesujący jest wynik stymulacji komórek nabłonka endometrium dekoryną, po wcześniejszej, dobowej inkubacji w pożywce wzbogaconej progesteronem, ponieważ wówczas Doktorantka zaobserwowała istotne zwiększenie adhezji komórek pochodzących od krów w 2 miesiącu ciąży przy zastosowaniu stężenia 10^{-7}M progesteronu, oraz istotny wzrost adhezji komórek pochodzących od krów w 4 miesiącu ciąży przy zastosowaniu każdej z dawek progesteronu. Świadczyło to o hamującym wpływie progesteronu na antyadhezyjne działanie dekoryny na komórki nabłonka endometrium ciężarnej macicy u krów. W przypadku preinkubacji komórek przez dobę $\text{PGF}_{2\alpha}$, a następnie suplementacji pożywki hodowlanej dekoryną dochodziło do istotnego zwiększenia adhezji komórek nabłonka endometrium izolowanych z brodawek macicznych krów w 4 miesiącu ciąży, co również może świadczyć o hamującym wpływie tego hormonu na antyadhezyjne działanie dekoryny na komórki nabłonka endometrium, lecz jedynie na późniejszych etapach ciąży.

Pewne wątpliwości oraz niedosyt Recenzentki wzbudziły opisane wyniki doświadczeń z użyciem inhibitorów N-glikozylacji oraz O-glikozylacji. W zaprezentowanych na wykresach nr 5 i 6 wynikach testu MTT jedynie inhibitor O-glikozylacji (BZ) w zastosowanej dawce 2mM nie wywierał istotnego wpływu na żywotność komórek. Użycie inhibitora N-glikozylacji – tunikamycyny w stężeniu $1\mu\text{g/ml}$ (stężenie to mogło zostać również podane w molach/dm^3) wyraźnie zmniejszało żywotność komórek nawet o 40% i wyniki te były istotne statystycznie. Taki wynik powinien wzbudzić wątpliwości Doktorantki i zachęcić do przetestowania niższych stężeń tego związku, które mogłyby nadal hamować proces N-glikozylacji bez wyraźnego efektu cytotoksycznego. Tunikamycyna jest znana ze swoich silnych właściwości toksycznych nawet w niskich dawkach. W dostępnej literaturze istnieją doniesienia o możliwości stosowania stężeń w

zakresie 25-100 nM w celu zahamowania procesu N-glikozylacji bez nadmiernej utraty żywotności komórek. W przedstawionej do recenzji pracy zastosowana dawka tunikamycyny wynosiła w przeliczeniu ok. 1,22 μ M, czyli stężenie 10-50 krotnie większe. Dlatego nasuwają się pytania do Doktorantki:

- Czy podjęte były próby stosowania tunikamycyny w niższych stężeniach?
- Czy wykonano jakieś analizy wykazujące skuteczność zahamowania procesów N- oraz O-glikozylacji przez użyte inhibitory? Np. analizę Western-blot wykrywającą dekorynę jako przedstawiciela proteoglikanów zawierających wiązanie N-glikozydowe pomiędzy resztami cukrowymi a rdzeniem białkowym oraz mucyny jako przedstawicieli glikoprotein posiadających w swojej budowie wiązanie O-glikozydowe pomiędzy resztami cukrowymi a rdzeniem białkowym.

Ponieważ w teście MTT wykazane zostało, że stosowane stężenie tunikamycyny jest toksyczne dla komórek nabłonka endometrium nie dziwią przedstawione potem wyniki drastycznego, istotnego obniżenia adhezji komórek, które podlegały śmierci pod wpływem tego inhibitora. Dopiero dawka, która nie wpłynęłaby istotnie na żywotność komórek, a jednocześnie wywoływałaby oczekiwany efekt inhibicji, mogłaby być miarodajnie użyta do oceny wpływu zahamowania N-glikozylacji na proces adhezji komórek nabłonkowych do podłoża.

W kolejnym, szóstym rozdziale dysertacji uzyskane przez Doktorantkę wyniki zostały omówione i skonfrontowane z dostępną literaturą. Ta część rozprawy została również podzielona na podrozdziały, w których osobno zostały przedyskutowane wyniki z poszczególnych części rozdziału 5. Zdaniem recenzentki dyskusja została przeprowadzona w sposób fachowy i dojrzały, a dobór prac naukowych do których odnosiła się Autorka był właściwy. Pewną wadą podziału dyskusji na podrozdziały było rozpoczynanie każdego z nich pewnym wprowadzeniem, które nie zawsze ułatwiało czytelnikowi odbiór pracy. Na przykład podrozdział 6.1. pt. *Identyfikacja komórek* rozpoczęty został akapitem podkreślającym czasochłonność procedur izolacji komórek z tkanki oraz konieczność zmagania logistycznych. Mając doświadczenie w izolacji komórek z tkanek pobieranych poubojowo od zwierząt w rzeźni recenzentka zgadza się z przedstawionym komentarzem Autorki, jednak ten akapit nie wnosi wiele do pracy pod względem merytorycznym. Podobna sytuacja ma miejsce w podrozdziale 6.3. pt. *Wpływ wybranych stymulatorów na przeżywalność komórek*. W tym przypadku Doktorantka rozpoczyna podrozdział od wyjaśnienia na czym polegają najczęściej stosowane testy przeżywalności oraz testy proliferacji, omawiając szczegółowo zasadę testu MTT. Zdaniem recenzentki ten fragment dyskusji mógłby zostać pominięty, ponieważ test MTT jest metodą stosowaną bardzo często w badaniach biologii komórki. Najczęściej jako test pilotażowy umożliwiający badaczom dobór dawki stosowanego czynnika doświadczalnego, która nie będzie powodowała efektu cytotoksycznego. Tu recenzentka pragnie zwrócić uwagę na nieprawidłowe zamienne używanie terminów „żywotność” i „proliferaacja”, których absolutnie nie można określić jako synonimy. Możliwe jest bowiem stosowanie testu MTT na komórkach, które nie wykazują już aktywności proliferacyjnej, lecz zachowują w pełni sprawność przemian energetycznych zachodzących w mitochondriach. Stąd pytanie do Doktorantki: jaki był procent konfluencji komórek po 24 h od wysiania, jeśli komórki zgodnie z informacją podaną w metodyce wysiane były w liczbie 150 000 komórek/ml na 96-dołkowe płytki hodowlane? Czy po dobie od wysiania komórki nadal były zdolne do

prolifracji i 24 godzinna inkubacja z czynnikami doświadczalnymi mogła wpływać na dalszy wzrost komórek, czy też możliwe było jedynie obserwowanie wpływu na żywotność komórek?

W oddzielnym rozdziale Doktorantka podsumowała uzyskane wyniki podkreślając rolę białek macierzy zewnątrzkomórkowej w regulacji sygnałów pochodzących od hormonów ciążowych determinujących przyleganie i rozwój łożyska oraz płodu w czasie ciąży. Cytując Autorkę: *Proces adhezji zapewnia utworzenie prawidłowego połączenia matki i płodu w czasie placentacji, co determinuje prawidłowy przebieg ciąży.* Na końcu tego rozdziału zostały przedstawione cztery wnioski sformułowane na podstawie opisanych wyników oraz dostępnej literatury. Wnioski sformułowane są prawidłowo, chociaż ostatni z nich, dotyczący modulującego wpływu N-glikozylacji oraz O-glikozylacji na adhezję komórek endometrium ciężarnej macicy budzi pewne wątpliwości recenzentki z powodu przedstawionych we wcześniejszej części oceny uwag na temat doboru stężenia inhibitora N-glikozylacji: tunikamycyny.

Pragnę jednak podkreślić, że pomimo uwag zawartych w recenzji, pracę doktorską mgr inż. Moniki Jamiół oceniam dobrze, a otrzymane wyniki stanowią bardzo obiecujący punkt wyjścia do dalszych badań nad rolą białek macierzy zewnątrzkomórkowej, zwłaszcza proteoglikanów, w rozwoju łożyska u krów.

Wniosek Końcowy

Podsumowując stwierdzam, że przedłożona mi do recenzji rozprawa doktorska mgr inż., Moniki Jamiół pt. „Wpływ dekoryny, progesteronu i prostaglandyny F_{2α} na adhezję komórek endometrium ciężarnej macicy krów”, spełnia wymagania określone w art. 13 Ustawy z dnia 14 marca 2003 r. z poprawkami wprowadzonymi Ustawą z dnia 18 marca 2011 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz.U. z 2016 r. poz. 882) i wnoszę do Wysokiej Rady Dyscypliny Weterynaria, Wydziału Medycyny Weterynaryjnej, Uniwersytetu Przyrodniczego w Lublinie o dopuszczenie mgr inż. Moniki Jamiół do dalszych etapów przewodu doktorskiego.



Warszawa, 05.09.2020 r.

dr hab. Małgorzata Gajewska, prof. SGGW