Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu

Poznań, 2022-12-01

dr hab. Katarzyna Szkudelska, prof. UPP
Katedra Fizjologii, Biochemii i Biostruktury Zwierząt
Wydział Medycyny Weterynaryjnej i Nauk o Zwierzętach
Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu

Recenzja rozprawy doktorskiej pana magistra Karola Makowczenki, wykonana w Katedrze Anatomii i Fizjologii Zwierząt Wydziału Biologii i Biotechnologii Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego w Olsztynie pt.:

„Wpływ chemeryny na transkryptom komórek lutealnych jajnika świni domowej (*Sus scrofa domestica L.*)"

W przedstawionej do oceny rozprawie doktorskiej mgr. Karol Makowczenki opisał wyniki badań nad wpływem chemeryny na transkryptom w komórkach lutealnych wyizolowanych z jajników świni domowej oraz analizę potencjalnych mechanizmów regulacji ekspresji genów przez tę adipokinę, przy pomocy zaawansowanych metod bioinformatycznych. Promotorem pracy był prof. dr hab. Tadeusz Kamiński, a promotorem pomocniczym – dr Jan Paweł Jastrzębski. Rozprawę stanowią dwa, spójne tematycznie, oryginalne artykuły naukowe opublikowane w czasopismach z listy JCR, poprzedzone polskim opracowaniem, zawierającym streszczenie w języku polskim i angielskim, wykaz prac składających się na rozprawę, wprowadzenie do tematyki dysertacji, opis celu i zakresu badań, materiału badawczego, wykorzystanej metodyki, a także uzyskane wyniki oraz podsumowanie i wnioski. Pierwszy artykuł wchodzący w skład rozprawy pt.: "*Transcription Analysis of the Chemerin Impact on Gene Expression Profile in the Luteal Cells of Gilts*" został opublikowany w 2020 w czasopismie *Genes* (IF 4.141), a drugi pt.: "*Chemerin Impact on Alternative mRNA Transcription in the Porcine Luteal Cells*" w 2022 roku w czasopismie *Cells* (IF 7.666). Czasopisma wyróżniają się znaczącą punktacją MEiN. Badania zrealizowane zostały dzięki wsparciu finansowemu NCN. Prace są wieloautorskie – do rozprawy dołączono oświadczenie Doktoranta oraz wszystkich współautorów. Wskazują one na znaczące zaangażowanie Autora rozprawy w ich przygotowanie. Pan mgr Karol Makowczenko był pierwszym autorem obu artykułów. Brał także udział w opracowaniu koncepcji i metodyki badań, ich prowadzeniu, analizie danych, zarządzaniu danymi i oprogramowaniem, opracowaniu i wizualizacji wyników, przygotowaniu manuskryptu, a także korespondencji z recenzentami manuskryptów. Praca pod względem formalnym przygotowana została zgodnie z wytycznymi jednostki, jednak dobrze byłoby, gdyby odrębnie sformułowana została hipoteza rozprawy.

Prowadzone w ostatnich latach badania zespołu Katedry Anatomii i Fizjologii Zwierząt Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego w Olsztynie wskazują na istotne znaczenie wielu adipokin w regulacji procesów rozrodczych u samic świni domowej na różnych poziomach. Badania Doktoranta stanowią rozwinięcie tej tematyki badawczej o nowe, niepoznane dotychczas efekty działania jednej z adipokin – chemeryny na ekspresję genów, przy czym wykorzystano do tego celu nowe narzędzia bioinformatyczne, które pozwoliły znacznie poszerzyć analizy w zakresie interakcji i zmienności transkryptomu.

We wstępie polskiego opracowania, a także we wstępie artykułów wchodzących w skład rozprawy Autor zawarł informacje dotyczące odkrycia chemeryny, jej budowy i modyfikacji potranslacyjnych. Scharakteryzował receptory hormonu oraz ich specyfikę. Zwrócił także uwagę na obecność receptorów chemeryny w tkankach zaangażowanych w regulację procesów rozrodczych u ssaków. Wspomniał o roli chemeryny jako hormonu oddziałującego na adipogenezę i metabolizm adipocytów, a także o jej aktywności w układzie immunologicznym jako cytokiny chemotaktycznej. Więcej uwagi Doktorant poświęcił poznanym efektom działania hormonu w układzie rozrodczym ssaków, przy czym podkreślił, że nie ma danych na bezpośrednie oddziaływanie hormonu na komórki lutealne. Ponadto zauważył, że zainteresowanie wpływem chemeryny na regulację procesów rozrodczych jedynie w wąskim zakresie obejmuje zwierzęta gospodarskie. Zwrócił uwagę, że wyniki badań zespołu naukowców, z którymi pracuje, potwierdziły obecność wszystkich receptorów chemeryny w podwzgórzu, jajniku (w pęcherzyku jajnikowym i ciałku żółtym) i macicy świni w czasie zarówno cyklu rujowego jak i ciąży. Na tej podstawie Autor postawił hipotezę, że hormon może oddziaływać na procesy rozrodcze u świni w szerokim zakresie regulując oś podwzgórze-przysadka-gonady, w tym także funkcje ciałka żółtego. Celem badań obejmującym pierwszą pracę była analiza wpływu chemeryny na profil transkryptomu komórek lutealnych wyizolowanych z jajników świni w fazie środkowo-lutealnej. W drugiej pracy Doktorant powołując się na dane literaturowe wskazujące na rolę długich niekodujących RNA (lncRNA) w regulacji funkcji rozrodczych u ssaków, w tym także ciałka żółtego, postanowił wykonać kolejne analizy bioinformatyczne w celu określenia, czy chemeryna mogłaby tą drogą modyfikować ekspresję genów w komórkach lutealnych świni. Natomiast inne doniesienia, potwierdzające rolę mechanizmu alternatywnego składania genów w regulacji luteolizy, skłoniły Autora do podjęcia kolejnych analiz w celu identyfikacji produktów tego procesu pod wpływem działania chemeryny w komórkach ciałka żółtego. Ostatnim celem badań Doktoranta było rozpoznanie przypadków wariantów allelo-specyficznej ekspresji genów pod pływem chemeryny, przy czym Autor poparł swoją koncepcję opisując znany z literatury przykład polimorfizmu pojedynczego genu skorelowanego ze stężeniem chemeryny we krwi, towarzyszącego nasileniu angiogenezy u ludzi.

Podsumowując - wstęp rozprawy jest spójny dla obu publikacji, napisany w sposób zrozumiały, zawiera wszystkie niezbędne informacje, ujęte w sposób syntetyczny i z właściwym wyborem cytowanej literatury naukowej, co w pełni uzasadnia postawione hipotezy oraz wybór tematu rozprawy doktorskiej. Informacje zawarte przez Doktoranta we wstępie płynnie wprowadzają czytelnika do tematyki rozprawy. Ważnym atutem jest przedstawienie koncepcji dokonania analizy regulacji ekspresji oraz zmienności transkryptomu, która w obszarze tematyki rozprawy jest nowatorska.

Informacje zawarte w rozdziale „Materiały i metody" przekonują o właściwym wyborze materiału biologicznego do badań (jajniki do izolacji komórek pobierano między 10 i 12 dniem w fazie największej aktywności ciałka żółtego), jego prawidłowej weryfikacji oraz zabezpieczeniu. Metody izolacji i hodowli komórek lutealnych zostały szczegółowo opisane – podano nazwy, źródła i stężenia odczynników, warunki inkubacji, liczebność grup, wyjaśniono wybór chemeryny użytej do inkubacji oraz właściwie uzasadniono zastosowane stężenie.

Nasuwa się jednak pytanie, na ile prawdziwy obraz wpływu chemeryny na funkcje ciałka żółtego można uzyskać na podstawie analizy transkryptomu komórek lutealnych inkubowanych *in vitro* z czynnikiem doświadczalnym przez 24h.

Po zakończeniu inkubacji komórek z chemeryną wyizolowano całkowity RNA, zmierzono jego stężenie i oceniono czystość oraz integralność, co miało kluczowe znaczenie w następnych etapach – syntezie bibliotek cDNA, sekwencjonowaniu oraz analizach *in silico.* Autor jasno opisał kolejność postępowania z wyizolowanym materiałem, a także skrupulatnie opisał zestawy odczynników, warunki eksperymentu oraz aparaturę, którą wykorzystywał na tym etapie.

Następna część pracy Autora obejmowała analizy bioinformatyczne otrzymanych sekwencji.

Doktorant bardzo dokładnie opisał kolejne kroki postępowania wraz z informacją o wykorzystywanych na każdym etapie programach, czy bazach danych, a także przyjętych wartościach progu istotności statystycznej. Podając nazwy stosowanego oprogramowania, bibliotek, czy też wykorzystywanych baz danych, zadbał także o to, by powołać się na właściwe źródła literaturowe, bądź w kilku przypadkach - internetowe. Dużym udogodnieniem dla czytelnika było przedstawienie kolejności analiz w postaci schematów zamieszczonych w publikacjach.

Walidacja ekspresji wybranych na podstawie analiz *in silico* genów i lnc RNA przeprowadzona została metodą qPCR, którą również dokładnie opisano, podano warunki reakcji amplifikacji, w publikacjach zamieszczono sekwencje starterów.

Wyniki uzyskane przez Doktoranta wskazują, że chemeryna może kontrolować funkcje komórek ciałka żółtego. Na podstawie analiz zsekwencjonowanych bibliotek cDNA w pierwszej publikacji Autor wykazał, że chemeryna istotnie zmieniła ekspresję 721 transkryptów w porównaniu z kontrolą, z czego 509 stanowiły geny kodujące. Spośród wszystkich genów o zmienionej ekspresji (DEG) dla 301 wykazano wzrost ekspresji, a dla 208 spadek. Autor wyselekcjonował spośród nich 10 DEG, dla których zaobserwowano najwyższy wzrost ekspresji oraz 10 o największym spadku ekspresji. Co istotne - z puli DEG dla 98 wykazano zaangażowanie w szlaki metaboliczne mające znaczenie dla funkcji ciałka żółtego. Wyniki analiz PCR w czasie rzeczywistym dla wybranych 4 genów potwierdziły dane otrzymane w wyniku sekwencjonowania.

Następnie, na podstawie analiz funkcjonalnych genów o zmienionej pod wpływem chemeryny ekspresji – analizy ontologicznej GO, a także analizy możliwości ich zaangażowania w szlaki metaboliczne z wykorzystaniem bazy KEGG Autor wyselekcjonował 7 ścieżek sygnałowych, na które geny o zmienionej przez chemerynę ekspresji miały istotny wpływ, a następnie podjął się interpretacji tych interakcji w dyskusji. Ponadto do analizy dodatkowo wybrał jeszcze 4 inne ścieżki sygnałowe, dla których nie wykazano istotnego wpływu – Doktorant wytłumaczył tę decyzję znaczeniem tych ścieżek dla funkcji ciałka żółtego. Wyniki analizy w oparciu o bazę Reactome pozwoliły Autorowi wyróżnić 19 szlaków, na które wpływ miały DEG, a w zakresie pięciu z nich potwierdzić podobieństwo w zakresie tego wpływu do wyników wcześniejszych analiz funkcjonalnych.

Dane z sekwencjonowania Autor wykorzystał również do analiz bioinformatycznych opisanych w drugiej publikacji. Wykorzystując 5 różnych programów wyodrębnił 24 lncRNA o ekspresji zmienionej (DEL) pod wpływem chemeryny, z czego 4 lncRNA okazały się cząsteczkami nowoodkrytymi. Wykazał 16 cząsteczek DEL o obniżonej ekspresji i 8, których ekspresja wzrosła pod wpływem chemeryny. Dla czterech wybranych cząsteczek lncRNA przeprowadził walidację techniką RT PCR potwierdzając wyniki sekwencjonowania. Identyfikacja zależności pomiędzy DEL a DEG na podstawie ich ko-lokalizacji (cis-interakcji) w genomie świni wykazała 11 tego typu interakcji z 6 genami o zmienionej ekspresji, natomiast na podstawie analiz ko-ekspresji, wiązań mRNA-lncRNA oraz dopasowania przestrzennego białko – lncRNA znaleziono 1440 trans-interakcji DEL powiązanych z 300 DEG.

Analiza zmienności miejsc alternatywnego splicingu wykazała 137 miejsc zmienionych pod wpływem chemeryny i wszystkie były zlokalizowane w 92 genach o zmienionej ekspresji. Autor wyróżnił 4 geny, dla których wykryto te zmienności - w dyskusji próbował wytłumaczyć możliwe skutki tych zmienności dla funkcji komórek lutealnych.

Kolejnym etapem potwierdzającym zmienność transkryptomu w odpowiedzi na działanie chemeryny było wykrycie przypadków allelo-specyficznej zmienności ekspresji. Ujawniono 18 wariantów istotnie statystycznie zmienionej tą drogą ekspresji, z czego 13 nowych. Autor opisał bardziej szczegółowo, dla których genów transkrypty były zmienione i jakie mogło to wywołać skutki w ekspresji.

Dysponując wynikami analiz DEL, ich interakcji *cis* i *trans* z DEG, koekspresji oraz zidentyfikowanymi przypadkami zmienności alternatywnego splicingu oraz allelo-specyficznej zmienności ekspresji Doktorant wykorzystał program KOBAS w celu dokonania kolejnych analiz

funkcjonalnych umożliwiających podsumowanie i połączenie otrzymanych danych z poszczególnych procesów oraz oszacowanie możliwości ich zaangażowania w funkcje biologiczne. Zidentyfikował, 85 szlaków, w których stwierdzone zmienności mogły mieć znaczenie, z czego 35 o potencjalnej roli w ciałku żółtym.

Wyniki poszczególnych analiz *in silico* zostały opisane bardzo dokładnie, w kolejności zgodnej z zamieszczonymi w obu publikacjach schematami postępowania. W zależności od rodzaju wykonanej analizy przedstawiono je w tabelach, na rycinach i wykresach np. wykresach typu MA, typu wulkan, typu lizak, w postaci mapy ciepła, na wykresie Sashimiego, czy też w postaci diagramu Venn'a, także materiałach uzupełniających. Umieszczone we właściwych miejscach tekstu publikacji odnośniki do poszczególnych tabel i rycin, a także klarowne opisy, w sposób istotny ułatwiały sprawne odszukanie wyników. W opisie wyników polskiego opracowania rozprawy Autor przetłumaczył część wyników z odpowiednich rozdziałów publikacji wchodzących w jej skład, chociaż, moim zdaniem, dobrym rozwiązaniem byłoby dodatkowe wyeksponowanie i syntetyczne przedstawienie najważniejszych wyników wynikających z przeprowadzonych analiz w osobnym podrozdziale.

Doktorant wykonał analizy RT PCR w celu walidacji wyników sekwencjonowania dla 8 transkryptów. Oprócz tego, przynajmniej dla kilku wyróżnionych genów o zmienionej transkrypcji można było przeprowadzić także analizy ekspresji na poziomie białka, zwłaszcza, że interpretacja wyników wyraźnie sugerowała potencjalną możliwość zmian w tym zakresie.

Dyskusja stanowi obszerną część rozprawy. Z jednej strony jest to konsekwencją ilości wyników analiz *in silico* i wykrytych możliwości zaangażowania chemeryny w szlaki sygnałowe komórek lutealnych. Z drugiej strony, wyniki w wielu przypadkach nie były jednoznaczne i w związku z tym nie zawężyły możliwości interpretacji. Rozdziały w obu publikacjach, ze względu na rodzaj wykonanych analiz, miały charakter spekulacyjny.

Autor interpretował wyniki, dla których analizy *in silico* wykazały możliwość zaangażowania chemeryny w szlaki sygnałowe komórek lutealnych, by określić w jaki sposób są regulowane. Wykazał się przy tym wiedzą, dociekliwością i pracowitością – wyjaśnienie wielu skomplikowanych regulacji wymagało poświęcenia czasu na poszukiwanie danych w piśmiennictwie naukowym oraz ich analizę. Jako pierwszy, wraz z Zespołem, udowodnił istotny wpływ chemeryny na komórki lutealne pozyskane od świni w środkowo-lutealnej fazie cyklu rujowego, poprzez zarówno zmianę ekspresji genów białek szlaku związanego z aktywacją odpowiedzi zapalnej – NFκB, jak i szlak transdukcji sygnału JAK/STAT (kinazy Janusowe/przekaźnik sygnału i aktywator transkrypcji) związanego z różnicowaniem, migracją, proliferacją i apoptozą - JAK/STAT. Jak zauważył Autor, w przypadku regulacji szlaku sygnału NFκB chemeryna aktywowała ekspresję genów białek zaangażowanych w klasyczną tzw. „kanoniczną" regulację procesów zapalnych, lecz także tych, które zaangażowane były w alternatywną regulację szlaku. Wyniki nie dały więc jednoznacznej odpowiedzi na kierunek działań chemeryny wskazując na możliwość działania zarówno luteolitycznego, jak i luteoprotekcyjnego w komórkach. Luteoprotekcyjny charakter działania chemeryny potwierdzała dalej regulacja ekspresji genów białek uczestniczących w syntezie prostaglandyny E_2 w komórkach, natomiast niejednoznaczny był wpływ adipokiny na regulację apoptozy. Wzrost ekspresji genów białek niektórych kaspaz (m.in. kaspazy 3) wskazywał bowiem na możliwość luteolitycznego działania chemeryny, z drugiej strony - wzrost ekspresji genów białek odpowiedzialnych za hamowanie kaskady reakcji programowanej śmierci komórki poprzez wiązanie kaspaz, ale także ubikwitynację białek zaangażowanych w ścieżkę sygnałową NFκB, świadczył o możliwości ochrony przeżywalności komórek. Ponadto Autor wspomniał (w drugiej publikacji), że wykonana w podobnych warunkach doświadczalnych analiza białka kaspazy 3 metodą immunoenzymatyczną nie była zmieniona przez chemerynę. Analiza wyników ujawniła ponadto pozorną sprzeczność, polegającą na zahamowaniu przez chemerynę ekspresji genu dehydrogenazy 3β-hydroksysteroidowej, choć wcześniej dowiedziono, że w podobnych warunkach doświadczalnych obserwowano wzrost sekrecji hormonu pod wpływem adipokiny. Wytłumaczono,

że regulacja ekspresji genu enzymu była prawdopodobnie regulowana poprzez sprzężenie zwrotne ujemne. Nasuwa się jednak pytanie o inną możliwość wyjaśnienia tych obserwacji. Autor zwrócił uwagę na złożoność regulacji sekrecji podkreślając, że działanie stymulujące lub hamujące na tym poziomie jest zależne od wielu czynników regulujących funkcje jajnika w różnych fazach cyklu.

W drugiej publikacji mgr Makowczenko poszerzył interpretacje dotyczące działania chemeryny w komórkach lutealnych potwierdzając, że nie tylko zmiana ekspresji genów, ale także zmienność produktów transkrypcji oraz potencjalne interakcje między nimi, mogą istotnie wpływać na określenie kierunku zmian w działaniu adipokiny. Rozważania Doktoranta wskazały na możliwość jej wielokierunkowego wpływu, ze znaczną przewagą regulacji w kierunku stymulacji procesu luteolizy poprzez, przede wszystkim, intensyfikację procesów zapalnych.

Przekonująco wskazał na możliwość zaangażowania receptora chemeryny CCRL2, poprzez który adipokina ta mogłaby pełnić funkcje chemotaktyczne i stymulować migrację leukocytów do ciałka żółtego. Chociaż ekspresja genu tego receptora nie była zmieniona to jednak alternatywny splicing pod wpływem adipokiny zmienił proporcje pomiędzy jego wariantami, co mogło, jak sugerował Autor, powodować zmiany w szlakach sygnałowych kontrolowanych przez ten receptor – szlaku kinaz aktywowanych mitogenami (MAPK) oraz szlaku JAK/STAT, a w konsekwencji determinować wzrost procesów prozapalnych i degradacji ciałka żółtego. Inne zaobserwowane istotne efekty działania chemeryny - interakcje pomiędzy lncRNA o zmienionej ekspresji, a genami białek zaangażowanych w szlak sygnałowy czynnika martwicy nowotworów (TNF) oraz zmiany w proporcji transkryptów tych genów w wyniku allelo-specyficznej ekspresji mogły, wg Doktoranta, potwierdzać zaangażowanie hormonu w stymulację syntezy cytokin, chemokin i czynników adhezyjnych, a pośrednio w aktywację luteolizy. Obserwowano m.in. wzrost ekspresji genów chemokin CCL2, CCL4 i CCL5 oraz wykazano możliwość interakcji ich transkryptów, co mogło zapoczątkować infiltrację leukocytów. Autor potwierdził ponadto, że wykazany spadek ekspresji genu białka luteotropowej chemokiny SDF1 mógł także pośrednio być w ten efekt zaangażowany. Na podstawie istotnego wzrostu ekspresji genów białek cytokin prozapalnych IL-1α, IL-6, IL-8, spadku ekspresji genu białka przeciwzapalnego transformującego czynnika wzrostu β (TGF-β), oraz interakcji transkryptów ich genów potwierdzono też możliwość aktywacji szlaku NFκB, a w konsekwencji starzenia się komórek lutealnych.

Do innych efektów chemeryny w komórkach lutealnych, które wskazywały na możliwość jej luteolitycznego charakteru, zaliczyć można także wzrost ekspresji genów białek zaangażowanych w indukcję immunoproteasomu, a także m.in. *trans*-interakcje ich transkryptów z lncRNA o zmienionej ekspresji. Powstanie pięciu wariantów alternatywnego splicingu transkryptu genu FHL1 (białka szlaku sygnałowego JAK/STAT), po inkubacji z chemeryną stwarzało z kolei możliwość hamowania steroidogenezy w komórkach za jej pośrednictwem.

Na podstawie analizy ekspresji Autor wykazał ponadto możliwość oddziaływania chemeryny na procesy nekroptyczne w komórkach lutealnych, jednakże nie zaobserwowano zmian w ekspresji markerowych genów zaangażowanych w ten proces.

Z drugiej strony Autor wykazał możliwość przeciwnych efektów działania adipokiny. Zahamowanie transkrypcji genów białek antygenów należących do grupy MHCII przez chemerynę, a także jej wpływ na interakcje oraz na powstanie alternatywnych, krótszych transkryptów tych genów w konsekwencji mogło prowadzić do hamowania sekrecji cytokin luteolitycznych. Inny zaproponowany możliwy efekt luteoprotekcyjny – wzrost angiogenezy mógł być, zdaniem Autora, związany ze wzrostem ekspresji mRNA dla czynnika wzrostu śródbłonka naczyniowego A oraz jego interakcji z lncRNA o zmienionej ekspresji.

Należy podkreślić, że Doktorant starał się bardzo rzetelnie tłumaczyć możliwości działania chemeryny w komórkach lutealnych. Wnikliwe i drobiazgowe analizy pozwoliły na określenie kierunków tych działań. Mimo dostępności źródeł naukowych, nie w każdym wypadku istniała możliwość przekonującej interpretacji, chociaż wykazane zostały istotne zmiany ekspresji. Takim przykładem były n.p. efekty działania chemeryny na regulację ekspresji genu MCL1.

Inne pytania i komentarze:

1. Na początku dyskusji w drugiej pubikacji, celem poparcia znaczenia badań nad transkryptomem, Doktorant przytoczył dane wskazujące, że zmiany na poziomie mRNA wyjaśniają 84% zmienności na poziomie białka. Czy po przeprowadzonych analizach wyników swoich badań może zgodzić się z tym stwierdzeniem?
2. Podczas lektury rozdziału „Dyskusja" w obu publikacjach pewną trudność stanowiło rozgraniczenie treści będących interpretacją wyników Doktoranta od tych, które były interpretacją wyników badań innych autorów przywoływanych w cytowaniach.
3. Tabela z wyjaśnionymi skrótami stosowanymi w pracy znajduje się w drugiej publikacji, częściowo także przy opisie rycin i tabel, lecz z pewnością wyjaśnianie skrótów przede wszystkim - nazw genów, byłoby wskazane w tekście publikacji, przynajmniej w miejscach, gdzie są użyte po raz pierwszy.
4. Bardzo trudno wnioskować o wpływie chemeryny na podstawie tylko i wyłącznie badań *in silico*, o czym świadczy niejednoznaczność interpretacji - np. działanie jednocześnie proapoptotyczne/luteolityczne i antyapoptotyczne/luteoprotekcyjne. Mając zasób informacji na temat możliwości oddziaływnia chemeryny - od czego można by rozpocząć badania, które potwierdziłyby lub wykluczyły spekulacje zawarte w dyskusji rozprawy?
5. W polskim opracowaniu rozprawy, w ostatnim wniosku, Doktorant stwierdził, że chemeryna wydaje się być hormonem łączącym regulację procesów metabolicznych i rozrodczych, jednak nie jest jasne na podstawie jakich wyników i jakiej interpretacji taki wniosek można było sformułować.

Podsumowanie i wnioski

Rozprawę doktorską mgr. Karola Makowczenki oceniam pozytywnie. Wyniki jego pracy znacząco przyczyniły się do uzupełnienia wiedzy o możliwych efektach działania chemeryny w regulacji funkcji układu rozrodczego samic zwierząt gospodarskich oraz stworzyły solidne podstawy do dalszego rozwijania tematyki badawczej w tym zakresie. Zaawansowane umiejętności Doktoranta w zakresie posługiwania się narzędziami bioinformatycznymi i zdolność krytycznej interpretacji szerokiego spektrum analiz zostaną z pewnością wykorzystane przez naukowców, z którym będzie pracował.

Podsumowując, uważam, że rozprawa doktorska mgr. Karola Makowczenki spełnia warunki określone w art. 187 Ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (tekst jednolity: Dz. U. z 2022 r. poz. 574 ze zm.). Wnoszę do Rady Naukowej Dyscypliny Nauki biologiczne Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego w Olsztynie o dopuszczenie pana mgr Karola Makowczenki do dalszych etapów postępowania o nadanie stopnia doktora w dziedzinie nauk ścisłych i przyrodniczych, w dyscyplinie nauki biologiczne.

Katarzyna Szwedelska