Prof. dr hab. Katarzyna Knapczyk-Stwora
Zakład Endokrynologii
Katedra Fizjologii Zwierząt
Instytut Zoologii i Badań Biomedycznych
Uniwersytet Jagielloński w Krakowie

UNIWERSYTET
JAGIELLOŃSKI
W KRAKOWIE

Wydział Biologii

Instytut Zoologii
i Badań Biomedycznych

Zakład Endokrynologii

Recenzja rozprawy doktorskiej
mgr Moniki Golubskiej

zatytułowanej: „Udział receptorów aktywowanych przez proliferatory peroksysomów beta/delta (PPARβ/δ) w regulacji procesu zapalnego w błonie śluzowej macicy świni (*Sus scrofa domestica*)"

Recenzja została przygotowana na podstawie decyzji Rady Naukowej Dyscypliny Nauki Biologiczne Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego w Olsztynie z dnia 26 czerwca 2025 r.

Zasadność podjętej tematyki:

Tematyka rozprawy doktorskiej mgr Moniki Golubskiej wpisuje się w obszar biologii rozrodu i patofizjologii zaburzeń płodności, koncentrując się na molekularnych mechanizmach regulacji odpowiedzi immunologicznej w błonie śluzowej macicy świni domowej. W pracy wykorzystano ten gatunek modelowy, o szerokim zastosowaniu w badaniach translacyjnych, do zbadania roli ligandów receptorów aktywowanych przez proliferatory peroksysomów typu β/δ (PPARβ/δ) w regulacji odpowiedzi immunologicznej w błonie śluzowej macicy podczas stanu zapalnego indukowanego lipopolisacharydem (LPS) w warunkach *in vitro*. Wybór modelu badawczego oraz zakres analiz są w pełni uzasadnione w kontekście narastającego problemu zapaleń w obrębie żeńskiego układu rozrodczego, zarówno u kobiet, jak i u zwierząt gospodarskich. Znaczący udział ligandów PPARβ/δ w modulowaniu odpowiedzi zapalnej został potwierdzony w różnych tkankach, jednak ich funkcja w obrębie macicy w warunkach trwającego stanu zapalnego pozostaje słabo poznana. W szczególności brakuje danych dotyczących mechanizmów, za pośrednictwem których ligandy PPARβ/δ wpływają na ekspresję markerów zapalnych w tej tkance.

Rozprawa została zrealizowana w ramach projektu badawczego OPUS9 finansowanego przez Narodowe Centrum Nauki, w Katedrze Anatomii i Fizjologii Zwierząt Wydziału Biologii i Biotechnologii Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego w Olsztynie, pod kierunkiem prof. dr hab. inż. Iwony Bogackiej oraz dr Aleksandry Kurzyńskiej jako promotora pomocniczego. Tematyka pracy kontynuuje kierunek badań Zespołu prof. Bogackiej,

ul. Gronostajowa 9
30-387 Kraków
tel./fax: +48 12 664 50 98

dotyczących roli receptorów PPAR i ich ligandów w regulacji funkcji żeńskiego układu rozrodczego, zwłaszcza tych wskazujących na zależność między aktywnością PPARβ/δ a ekspresją cytokin pro- i przeciwzapalnych w błonie śluzowej macicy podczas fazy lutealnej cyklu rujowego oraz we wczesnej ciąży.

W świetle przedstawionych przesłanek, a także niedostatecznego stanu wiedzy w omawianym zakresie, należy uznać podjętą tematykę za w pełni uzasadnioną, aktualną i istotną.

Struktura rozprawy doktorskiej:

Przedłożoną do recenzji rozprawę doktorską stanowią dwie spójne tematycznie oryginalne publikacje naukowe, opublikowane odpowiednio w latach 2024 i 2025 w recenzowanych czasopismach o międzynarodowym zasięgu: *Theriogenology* oraz *Journal of Physiology and Pharmacology*. Oba czasopisma posiadają profil ściśle związany z tematyką badań, a ich łączny współczynnik wpływu (*impact factor*) wynosi 4,4. Zgodnie z aktualnym wykazem Ministerstwa Edukacji i Nauki, łączna punktacja za publikacje wynosi 240 punktów. Jedna z prac zawiera również materiał uzupełniający w formie danych dodatkowych (*supplementary data*). Publikacje mają charakter zespołowy i liczą, odpowiednio, sześciu i pięciu współautorów. W obu artykułach mgr Monika Golubska figuruje jako pierwszy autor. Zgodnie z załączonymi oświadczeniami autorki oraz współautorów, samodzielna i możliwa do wyodrębnienia część w obu przedstawionych publikacjach, wykazuje indywidualny wkład mgr Moniki Golubskiej polegający na jej udziale w opracowaniu koncepcji oraz metodyki badań, wykonaniu doświadczeń *in vitro* i analiz laboratoryjnych, weryfikacji poprawności uzyskanych wyników, opracowaniu i wizualizacji wyników, przygotowaniu tekstu manuskryptu oraz odpowiedzi na recenzje.

Integralną część rozprawy stanowi również autorskie 38 stronnicowe opracowanie w języku polskim, w którym Doktorantka z dużą sprawnością i dbałością o poprawny przekaz wprowadza w tematykę badawczą, formułuje hipotezy i zadania badawcze, charakteryzuje materiał oraz zastosowane metody, opisuje uzyskane wyniki w odniesieniu do zadań badawczych, a także wyprowadza wnioski. Ta część rozprawy stanowi staranne opracowanie i dostarcza niezbędnych informacji dla zrozumienia celu podjętych badań, jak również dowodzi, że Doktorantka opanowała zagadnienia dotyczące roli ligandów PPAR w regulacji procesów zachodzących w układzie rozrodczym samicy, w tym w regulacji procesów zapalnych na wysokim poziomie.

Na podstawie analizy tekstu rozprawy, publikacji oraz dołączonych oświadczeń, można jednoznacznie stwierdzić, że wkład merytoryczny

Doktorantki w przygotowanie przedstawionych prac był wiodący. Do pracy dołączono także krótką charakterystykę dorobku naukowego.

Podsumowując, z formalnego punktu widzenia, **dysertacja zawiera wszystkie ustawowo i zwyczajowo wymagane elementy w rozprawach doktorskich.** Z naukowego punktu widzenia, warto byłoby rozważyć dodanie refleksji na temat ograniczeń przeprowadzonych badań oraz perspektywach na przyszłość.

Ocena wartości merytorycznej rozprawy:

Celem rozprawy doktorskiej mgr Moniki Golubskiej była weryfikacja hipotez zakładających, że ligandy PPARβ/δ uczestniczą w regulacji odpowiedzi immunologicznej w błonie śluzowej macicy świni stymulowanej *in vitro* lipopolisacharydem, a także że efekt ten zależy od fazy cyklu rujowego oraz charakteru stanu zapalnego – rozwijającego się bądź trwającego. W realizacji tych założeń Doktorantka zaplanowała dwa zadania badawcze. Pierwsze z nich obejmowało analizę wpływu ligandów PPARβ/δ na globalny profil transkryptomu błony śluzowej macicy świni w warunkach zapalenia indukowanego *in vitro* LPS w fazie pęcherzykowej i środkowo-lutealnej cyklu rujowego. Badania przeprowadzono na fragmentach błony śluzowej macicy inkubowanych z LPS, a następnie traktowanych agonistą lub antagonistą PPAR β/δ. Analizę ekspresji genów przeprowadzono metodą sekwencjonowania RNA (RNA-Seq), a wybrane wyniki zweryfikowano techniką real-time PCR. Dane te zostały przedstawione w **pierwszej publikacji** stanowiącej część rozprawy. Zastosowane narzędzia bioinformatyczne umożliwiły identyfikację zróżnicowanego wpływu ligandów PPARβ/δ na ekspresję genów związanych z odpowiedzią immunologiczną, angiogenezą, szlakiem sygnalizacji NF-κB oraz aktywacją szlaku dopełniacza. Wyniki te jednoznacznie wskazują na udział PPARβ/δ w regulacji odpowiedzi zapalnej endometrium, zależnej od fazy cyklu rujowego.

Drugie zadanie badawcze dotyczyło określenia wpływu ligandów PPARβ/δ na ekspresję mRNA i sekrecję białek mediatorów odpowiedzi immunologicznej w błonie śluzowej macicy świni w fazie środkowo-lutealnej i pęcherzykowej cyklu rujowego w warunkach trwającego i rozwijającego się zapalenia. Analizy przeprowadzono w dwóch niezależnych modelach doświadczalnych, uwzględniających inkubację fragmentów endometrium z LPS i ligandami PPARβ/δ. Ekspresję genów oceniono metodą real-time PCR, a poziomy cytokin z użyciem testów immunoenzymatycznych. Wyniki tych analiz zostały przedstawione w **drugiej publikacji** wchodzącej w skład rozprawy. Doktorantka wykazała, że ligandy PPARβ/δ modulują odpowiedź zapalną, między innymi poprzez stymulację ekspresji mRNA cytokin prozapalnych (*IL-1β, IL-6, IL-8, TNFα*), przy czym efekt ten był szczególnie wyraźny w fazie środkowo-lutealnej. Doktorantka wykazała ponadto, że status

hormonalny zwierząt ma istotniejszy wpływ na działanie ligandów PPARβ/δ niż sam charakter stanu zapalnego – rozwijający się lub trwający.

Obie publikacje, wchodzące w skład dysertacji, przedstawiają wyniki w sposób przejrzysty i spójny, cechują się wysokim poziomem merytorycznym oraz krytycznym podejściem do interpretacji danych. Zawierają szczegółowy opis metod, przejrzystą prezentację wyników oraz dobrze umotywowaną dyskusję. Prezentowane badania są oryginalne, istotne dla dyscypliny nauki biologiczne i wnoszą nowe informacje na temat mechanizmów regulacji odpowiedzi immunologicznej w endometrium, zwłaszcza w kontekście aktywności ligandów PPARβ/δ. Bez wahania można zatem stwierdzić, że mgr Monika Golubska prezentuje dobrą znajomość zagadnień teoretycznych dotyczącą omawianego problemu badawczego oraz opanowała metodologię badań eksperymentalnych potwierdzając zdolność do samodzielnego prowadzenia pracy naukowej, **spełniając tym samym wymagania, o których mowa w art. 187 punkt 1 Ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce**.

Ponadto, realizacja zaplanowanych zadań badawczych stanowi kontynuację badań prowadzonych przez zespół promotorski, przyczyniając się do poszerzenia wiedzy o molekularnych mechanizmach regulacji odpowiedzi immunologicznej w błonie śluzowej macicy, tym samym spełniając wymóg oryginalnego rozwiązania problemu naukowego, zgodnie z **art. 187 punkt 2** wspomnianej ustawy. Uzyskane dane wskazują na istotną rolę ligandów PPARβ/δ w odpowiedzi immunologicznej podczas stanu zapalnego w błonie śluzowej macicy, co może stanowić podstawę do dalszych, translacyjnych badań nad terapiami zaburzeń płodności związanych ze stanami zapalnymi.

Pytania:

1. Czy analizując geny, których ekspresja uległa zmianie zarówno po zastosowaniu agonisty, jak i antagonisty, zaobserwowano przeciwstawne (np. wzrost ekspresji po podaniu agonisty i spadek po podaniu antagonisty) czy podobne kierunki tych zmian? Jak można wyjaśnić uzyskane wyniki w kontekście mechanizmu działania receptorów PPARβ/δ oraz ich ligandów?

2. Na podstawie uzyskanych danych eksperymentalnych wydaje się, że ligandy PPARβ/δ wykazują działanie prozapalne w badanym modelu. W zawiązku z tym jak Doktorantka ocenia potencjalne zastosowanie praktyczne tych wyników, na przykład w kontekście badań translacyjnych nad patogenezą i terapią endometriozy?

3. W dyskusji zawartej w pierwszej publikacji wskazano ograniczenie badania polegające na zastosowaniu pojedynczej dawki ligandów receptorów PPARβ/δ. Czy Doktorantka widzi inne potencjalne czynniki ograniczające (tzw.

limitations of the study), które mogły wpłynąć na interpretację uzyskanych wyników?

4. Mając na uwadze ograniczenia badań prowadzonych *in vitro*, jakie podejście badawcze zaproponowałaby Autorka w warunkach *in vivo*, które mogłoby służyć weryfikacji uzyskanych dotychczas obserwacji?

Ocena końcowa:

Przedłożona do oceny rozprawa doktorska Pani mgr Moniki Golubskiej spełnia wszystkie warunki określone w artykule 187 Ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (tekst jednolity Dz. U. z 2024 poz. 1571) stawiane pracom doktorskim. W związku z powyższym **wnoszę do Rady Naukowej Dyscypliny Nauki Biologiczne Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego w Olsztynie o dopuszczenie mgr Moniki Golubskiej do dalszych etapów postępowania o nadanie stopnia doktora w dziedzinie nauk ścisłych i przyrodniczych w dyscyplinie nauki biologiczne**. Biorąc pod uwagę wysoką wartość merytoryczną rozprawy, oryginalność uzyskanych wyników oraz ich istotny wkład w poszerzenie wiedzy na temat molekularnych mechanizmów regulacji odpowiedzi immunologicznej w macicy, jak również fakt, iż rezultaty pracy zostały opublikowane w renomowanych czasopismach o zasięgu międzynarodowym, **wnoszę o wyróżnienie recenzowanej rozprawy doktorskiej**.

Kraków 17.07.2025

Katarzyna Knapczyk-Stwora