

RECENZJA

rozprawy doktorskiej lek wet Żanety Dzięgielewskiej-Sokołowskiej

Wykonana na zlecenie Dyrektora Instytutu Medycyny Weterynaryjnej Szkoły Głównej Gospodarstwa Wiejskiego W Warszawie prof. dr hab. Marcina Bańbury – pismo z dnia 21 października 2021 r.

Przedstawiona do recenzji rozprawa doktorska lek wet Żanety Dzięgielewskiej-Sokołowskiej pt. "Rola fibroblastów i adipocytów w regulacji rozwoju nabłonka gruczołu sutkowego u bydła – badania in vitro" została wykonana pod kierunkiem dr hab. Małgorzaty Gajewskiej, prof. SGGW. Obejmuje monograficzne opracowanie zawierające wstęp, cel, opis materiału i metodyki, wyniki, dyskusję, wnioski, wykaz literatury i wykaz skrótów oraz streszczenie w jęz. polskim i angielskim.

Na podkreślenie zasługuje uzyskanie finansowania na realizację pracy ze środków Krajowego Naukowego Ośrodka Wiodącego w ramach grantu promotorskiego Zintegrowanej Szkoły Doktorskiej Konsorcjum Naukowego "Zdrowe Zwierzę - Bezpieczna Żywność (KNOW 2015/CB/PRO1/21).

Prawidłowo funkcjonujący gruczoł sutkowy to prawidłowa laktacja i odżywianie noworodka. Rozwój i involucja gruczołu powtarzają się w każdej ciąży i laktacji pobudzając podobne procesy ale czy na pewno przebiega to identycznie za każdym razem? Odpowiedz na to pytanie ma ogromne znaczenie dla prawidłowego rozrodu i hodowli zwierząt. Badanie tych skomplikowanych, w dużej części niewyjaśnionych, procesów i ich regulacji wymaga odpowiednich narzędzi jakimi na pewno mogą być doświadczenia oparte o hodowle komórkowe. Co więcej regulacja oddziaływań międzykomórkowych może również być wykorzystana w badaniu procesów patologicznych jak nowotworzenie. Dlatego każde opracowanie, które przybliży nowe, nieznane aspekty kontroli i regulacji rozwoju gruczołu sutkowego w aspekcie



mechanizmów wpływu populacji komórek gruczołu na siebie są jak najbardziej uzasadnione. Tak jest właśnie w przypadku przedstawionej do recenzji pracy, gdzie wykorzystane są nowoczesne i specjalistyczne metody laboratoryjne do oceny zachowania się komórek w różnych warunkach hodowli zarówno w monowarstwie jak i w warunkach 3D, w pojedynczej hodowli i ko-kulturze w dynamicznym układzie doświadczenia.

Autorka postawiła następujący cel:

- Określenie wpływu fibroblastów i adipocytów na aktywność proliferacyjną, zdolność migracji, zdolność do tworzenia struktur pęcherzykowych oraz funkcjonalne różnicowanie bydlęcych komórek nabłonka gruczołu sutkowego przy użyciu modelu in vitro ko-kultur komórkowych.

Materiałem badawczym były dwie pierwotne kultury komórkowe – komórki nabłonka gruczołu sutkowego pobrane poubojowo z tkanki gruczołowej wymienia krowy oraz mezenchymalne komórki macierzyste tkanki tłuszczowej pobrane z torebki tłuszczowej nerki krowy. Obszernie wyjaśniono wybór komórek do doświadczenia. Opis odczynników oraz użytych metod jest bardzo dokładny i wyczerpujący. Zastosowane zostały procedury identyfikacji uzyskanych komórek i czystości populacji tym samym materiał biologiczny został wystandaryzowany (obecność markerów charakterystycznych dla komórek macierzystych tkanki tłuszczowej oraz komórek nabłonkowych wraz z ekspresją genów 4 cytokeratyn). W kolejnych etapach sprawdzano wpływ pożywki kondycjonowanej (pochodzącej z hodowli komórek adipocytów) na właściwości komórek nabłonkowych. Ocena tego wpływu opierała się na testach MTT, ocenie potencjału proliferacyjnego, ocenie liczby komórek apoptotycznych, zdolności migracji, zdolności do wydzielania kazeiny czy tworzenia struktur trójwymiarowych. Przeprowadzano także hodowle w ko-kulturze komórek nabłonkowych z preadipocytami o morfologii fibroblastów oraz z adipocytami.

Stronę metodyczną oceniam jako adekwatnie wybraną do zdefiniowanych przez Doktorantkę celów i aktualnie akceptowaną dla opracowań typu doktoratu. Na szczególną uwagę zasługuje troska o odwzorowanie najbardziej jak to możliwe warunków w jakich komórki funkcjonują w swoim naturalnym środowisku. Służy temu



wykorzystanie pożywki kondycjonowanej zamiast dodatków egzogennych substancji do hodowli.

Wyniki zostały przedstawione bardzo starannie i szczegółowo. Zdjęcia mikroskopowe są bardzo dobrej jakości. Sam opis wyników uwzględnia logiczny układ doświadczeń i odniesienie do celów poszczególnych eksperymentów co ułatwia czytanie. Uzyskane wyniki poddane były analizie statystycznej.

Doktorantce udało się wystandaryzować proces pozyskiwania 2 pierwotnych linii badanych komórek i warunków hodowli w różnych warunkach. Potwierdzono wpływ czynników parakrynych produkowanych przez preadipocyty i adipocyty na zachowanie komórek nabłonkowych co wnosi nową wiedzę w regulację rozwoju komórek nabłonkowych hodowanych w monowarstwie jak i w warunkach hodowli 3D. Wpływ ten uzależniony jest od rodzaju komórek towarzyszących komórkom nabłonkowym. Opisano warunki hodowli dwóch populacji komórek w ko-kulturze i potwierdzono możliwość ich wykorzystania jako modelu do dalszych badań.

Rozdział Dyskusja wskazuje jednoznacznie na swobodne poruszanie się Doktorantki w zawitym procesie regulacji rozwoju i różnicowania się komórek gruczołu sutkowego. Potwierdza doskonale przygotowanie teoretyczne pochodzące z dostępnej literatury jak i umiejętność selekcji odpowiednich cytowań, jest ich 144, w znakomitej większości z ostatnich lat. Tekst napisany jest dobrym stylistycznie językiem. Komentuje w sposób zadowolający uzyskane wyniki i weryfikuje je z dostępnymi pracami innych autorów. Podkreśla znaczenie wyboru tematu i wykorzystanie uzyskanych wyników.

W oparciu o zdefiniowane cele uzyskano wyniki, które umożliwiły wyciągnięcie 4 wniosków.

Z obowiązku recenzenta zwracam uwagę na:

- kilka drobnych błędów edytorskich na stronach 42 (10 linia od dołu), 45 (14 linia od góry), 129 (6 linia od góry), 131 (wniosek nr 2)
- Wydaje się że „wprowadzenie” do rozdziału Wyniki na str 85 powinno znaleźć się raczej w dyskusji.
- Przygotowując pracę do druku warto pomyśleć o przeredagowaniu wniosków tak aby nie robiły wrażenia powtórzenia wyników.
- Zapytanie – co zadecydowało o wyborze tylko wybranych 3 parametrów



oznaczanych w pożywkach kondycjonowanych (chemeryna, adiponektyna i leptyna) ? Może warto byłoby oznaczyć coś jeszcze?

Wniosek końcowy

Recenzowana rozprawa doktorska wnosi nową wiedzę o regulacji komórek nabłonkowych gruczołu sutkowego w pełni realizując postawiony cel. Wykorzystuje nowoczesne metody laboratoryjne i proponuje nowe modele komórkowe do dalszych badań. Rozprawa doktorska odpowiada warunkom określonym w art. 187 ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U.z 2018 r. poz. 1668 ze zm.).

Biorąc powyższe pod uwagę wnoszę o dopuszczenie Pani lek wet Żanety Dzięgielewskiej-Sokołowskiej do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Mając na uwadze walory poznawcze i nowatorskość pracy wnoszę o wyróżnienie rozprawy stosowną nagrodą.


Kierownik Katedry Biochemii
Prof. dr hab. Marta Karkofer

