



**INSTYTUT ROZRODU ZWIERZĄT I BADAŃ ŻYWNOŚCI
POLSKIEJ AKADEMII NAUK**

ul. Tuwima 10; 10-748 Olsztyn, tel +48 89 523-46-86, 524-03-13

fax: (089) 524 01 24; e-mail: institute@pan.olsztyn.pl; www.pan.olsztyn.pl

Prof. dr hab. Janina Skipor-Lahuta

Zakład Lokalnych Regulacji Fizjologicznych

Tel.: 89 539 31 26

e-mail: j.skipor@pan.olsztyn.pl

RECENZJA

PRACY DOKTORSKIEJ MGR MAGDALENY ŁAPOT

pt.

"Wybrane mechanizmy neuronalnej regulacji ekspresji genu *GnRH* i genu receptora *GnRH*
w układzie podwzgórzowo-przysadkowym owcy"

Praca została wykonana w Zakładzie Neuroendokrynologii Instytutu Fizjologii i Żywienia Zwierząt im. Jana Kielanowskiego PAN (IFiZZ PAN) w Jabłonie pod kierunkiem naukowym dr hab. Magdaleny Olgi Ciechanowskiej.

Recenzję przygotowano w oparciu o decyzję Rady Naukowej IFiZZ PAN w Jabłonie z 15 czerwca 2021 roku, zgodnie z wymaganiami art. 20 ust. 5 ustawy z dnia 14 marca 2003 roku o stopniach i tytułach naukowych oraz o stopniach i tytułach w zakresie sztuki (Dz. U. z 2003, Nr 65, poz. 595 z późn. zmianami).

Temat pracy doktorskiej mgr Magdaleny Łapot wpisuje się w tematykę głównego nurtu badań, prowadzonych w IFiZZ PAN w Jabłonie, dotyczących centralnych mechanizmów regulacji procesów rozrodu zwierząt gospodarskich. Nadrzędnym elementem tej regulacji jest oś podwzgórze-przysadka-gonady (PPG), w której neurony uwalniające gonadoliberynę (*GnRH*) pełnią kluczową rolę w integracji sygnałów dopływających z mózgu i tkanek obwodowych, prowadzącej w efekcie do pobudzenia, bądź zahamowania aktywności osi PPG. *GnRH*, wiążąc się ze swoim receptorem (*GnRH-R*) na komórkach gonadotropowych przysadki, wpływa głównie na uwalnianie hormonu luteotropowego (*LH*) oraz w mniejszym stopniu hormonu folikulotropowego (*FSH*). Z kolei obecność *GnRH-R* w podwzgórzu wskazuje na możliwość udziału *GnRH* w regulacji własnej syntezy i sekrecji. Jednym z najbardziej fundamentalnych aspektów działania osi PPG jest sposób, w jaki sterydy płciowe modulują wydzielanie *GnRH*. W związku z brakiem klasycznych receptorów estrogenowych w neuronach *GnRH*-ergicznych podwzgórza, sterydy

działają pośrednio przez układy neuronalne, w których te receptory występują, między innymi przez neurony uwalniające β -endorfinę, dopaminę (DA), kwas gamma-aminomasłowy (GABA), neuropeptyd Y i noradrenalinę. W regulacji wydzielania GnRH uczestniczy również szereg innych czynników uwalnianych przez komórki glicyjne i nerwowe (rola niektórych została odkryta w okresie późniejszym w stosunku do badań zaplanowanych w doktoracie), w tym również sam GnRH w ramach ultrakrótkiej pętli regulacyjnej. Istotny wkład w poznanie neuroendokrynnych mechanizmów regulujących uwalnianie GnRH/LH u owiec w warunkach fizjologicznych i w stanie stresu wniosły badania profesora Franciszka Przekopa i jego zespołu. Należy podkreślić, że molekularny aspekt funkcjonowania tych mechanizmów nie był w ówczesnym czasie poznany. Wynalezienie technologii reakcji łańcuchowej polimerazy (PCR) dało początek PCR w czasie rzeczywistym (Real-Time PCR), co zrewolucjonizowało nauki biologiczne XXI wieku i umożliwiło badanie w/w mechanizmów na poziomie ekspresji genów. Doktorantka podjęła badania mające na celu określenie udziału GABA, dopaminy i GnRH w regulacji ekspresji genów kodujących GnRH i GnRH-R w układzie podwzgórzowo-prysadkowym owcy w różnych okresach aktywności rozrodczej. W świetle ówczesnej wiedzy (do 2008), podjęta tematyka należy bez wątpienia do ważnych i aktualnych. Badania finansowano ze środków projektu 2 PO6 00527, którego kierownikiem naukowym był profesor Franciszek Przekop.

CHARAKTERYSTYKA PRACY I UWAGI

Oceniana rozprawa, licząca 101 stron (w tym 20 rycin i 2 tabele), została napisana zgodnie z ogólnie przyjętymi zasadami dla rozpraw naukowych. Zawiera kartę tytułową, wykaz publikacji, w których opublikowano wyniki badań, streszczenie w języku polskim i angielskim, spis treści, wykaz używanych skrótów oraz następujące rozdziały: wstęp, założenia i cel pracy, materiał i metody, wyniki, dyskusja, wnioski oraz piśmiennictwo. Do manuskryptu dołączono również kopie 3 publikacji i oświadczenia wszystkich współautorów o ich wkładzie pracy w załączonych publikacjach. Niestety dokumenty zostały przygotowane niestarannie. Na karcie tytułowej manuskryptu zabrakło informacji, że jest to rozprawa doktorska. Publikacje i oświadczenia dołączono oddzielnie a nie w załączniku.

Doktorantka podaje, że w 2008 roku uzyskano, od Rady Naukowej IRiZZ PAN w Jabłonie i Centralnej Komisji do Spraw Stopni i Tytułów, zgodę na przedstawienie w dysertacji wyników badań zawartych w publikacjach. Z racji pełnienia przeze mnie funkcji recenzenta w przewodzie doktorskim Magdaleny O. Ciechanowskiej w 2009 roku, obecnej Promotorki mgr Łopot, posiadam kopię pisma z Centralnej Komisji do Spraw Stopni i Tytułów z dnia 6 maja 2008 roku (nr BCK-Org 142/2008), w którym podano, cyt. „(...) dopuszczalne jest wykorzystanie wcześniej opublikowanych badań do rozprawy doktorskiej, pod warunkiem, że wykorzystane w rozprawie badania zostały wykonane przez doktoranta lub z jego dominującym udziałem. W każdym jednak wypadku konieczne jest napisanie rozprawy doktorskiej tj. jako rozprawę doktorską nie można przedstawić cyklu wcześniej opublikowanych prac.” Zgodnie z tymi

wytycznymi mgr Łapot złożyła rozprawę doktorską w formie manuskryptu, w którym przedstawiono wyniki badań zawarte w następujących publikacjach:

1. Ciechanowska M, Łapot M, Malewski T, Mateusiak K, Misztal T, Przekop F. Implication of dopaminergic systems on GnRH and GnRHR genes expression in the hypothalamus and GnRH-R gene expression in the anterior pituitary gland of anestrous ewes. *Exp Clin Endocrinol Diabetes*. 2008; 116: 357-362 (IF₂₀₀₈=1,896), **publikacja I**
2. Łapot M, Ciechanowska M, Malewski T, Mateusiak K, Misztal T, Przekop F. Changes in the GnRH mRNA and GnRH receptor (GnRH-R) mRNA levels in the hypothalamic-anterior pituitary unit of anestrous ewes after infusion of GnRH into the third cerebral ventricle. *Reprod Biol*. 2008; 8: 149-161 (MNISW₂₀₀₈ wykaz B), **publikacja II**
3. Ciechanowska M, Łapot M, Malewski T, Mateusiak K, Misztal T, Przekop F. Effect of GABAA receptor modulation on the expression of GnRH gene and GnRH receptor (GnRH-R) gene in the hypothalamus and GnRH-R gene in the anterior pituitary gland of follicular-phase ewes. *Anim Reprod Sci*. 2009; 111: 235-248 (IF₂₀₀₉=1,563), **publikacja III**

Z uwagi na zmiany wprowadzone 1 października 2011, do ustawy z 2003 roku (art. 13, ust 2), dopuszczające formę doktoratu w postaci spójnego tematycznie zbioru artykułów opublikowanych lub przyjętych do druku w czasopismach naukowych, określonych przez ministra właściwego do spraw nauki na podstawie przepisów dotyczących finansowania nauki, uważam, że właściwsze byłoby nadanie rozprawie doktorskiej formy zbioru opublikowanych artykułów, tym bardziej, że do dokumentacji dołączono oświadczenia współautorów i publikacje, które spełniają kryteria zawarte w ustawie. W tej sytuacji opracowanie tekstowe, po odpowiedniej korekcie, mogłoby przyjąć formę syntetycznego komentarza do prac stanowiących cykl publikacji.

W obszernym wstępie (7 podrozdziałów) Doktorantka omawia neuroendokrynne mechanizmy regulujące sekrecję GnRH/LH, głównie w odniesieniu do różnych okresów aktywności rozrodczej samicy owcy. Oprócz omówienia roli klasycznych neurotransmiterów przedstawia również współczesny stan wiedzy na temat nowych układów neuronalnych uczestniczących w regulacji syntezy i uwalniania GnRH/LH, w tym roli neuronów wykazujących koekspresję kisspeptyny, neurokininy i dynorfiny (tzw. neuronów KNDy). Pomimo tego, że jest to nietypowe rozwiązanie, uznaję je za korzystne z uwagi na fakt, że założenia pracy doktorskiej sformułowano dużo wcześniej a wyniki badań opublikowano w latach 2008-2009. Moje zastrzeżenie budzą 3 akapity (od str. 33.) wstępu dotyczące roli systemu KNDy w kontroli uwalniania GnRH przed okresem dojrzewania oraz w odpowiedzi na niedożywienie i warunki stresogenne. Doktorantka niepotrzebnie wchodzi w zagadnienie, które nie jest przedmiotem jej badań. Wstęp powinien być poświęcony omówieniu stanu wiedzy i wynikających z niej przesłanek wskazujących na potrzebę

podjęcia badań naukowych, a co za tym idzie pozwolić na ocenę znajomości literatury, jej doboru do tematu pracy oraz umiejętności zadawania pytań w oparciu o dostępną wiedzę. Lektura tej części rozprawy pozwala stwierdzić, że Doktorantka posiada dobrze ugruntowaną, ogólną wiedzę teoretyczną w zakresie tematyki badawczej. Niemniej jednak popełnia błędy w opisie cech rozplodowych owiec rasy merynos polski przypisując owcom tej rasy sezon aktywności rozrodczej w miesiącach jesienno-zimowych, podczas gdy sezon rozrodczy u tej rasy trwa 10-11 miesięcy oraz niewłaściwie przypisując modyfikacje potranskrypcyjne (dotyczą RNA) do 92 aminokwasowego prekursora GnRH. Należy zaznaczyć, że zagadnienia poruszane we wstępie są zbliżone do omawianych w pracy doktorskiej Pani Promotorki, pt.: „*Ekspresja genów GnRH i receptora GnRH w układzie podwzgórzowo-przysadkowym owcy w różnych stanach fizjologicznych; wpływ czynników stresogennych*” oraz autoreferatu jej pracy habilitacyjnej pt.: „*Mechanizmy regulacji biosyntezy GnRH i receptora GnRH oraz sekrecji LH w układzie podwzgórzowo-przysadkowym owcy w różnych stanach fizjologicznych; wpływ czynników stresogennych*”. Stąd należałoby się spodziewać, że Doktorantka dołoży wszelkich starań aby nie doszło do „zapożyczeń” z w/w dokumentów. Niestety, w podrozdziale 1.2 omawiającym układ gonadoliberyny podwzgórzowej fragment dotyczący rozmieszczenia ciał neuronów GnRH-ergicznych (przedstawiony w załączniku do recenzji) został, w nieco tylko zmienionej formie, „zapożyczony” z pracy doktorskiej Pani Promotorki. Fragment ten, pomimo pewnych celowych przekształceń, odwzorowuje treść i konstrukcję myślową pracy, z której został powielony.

W oparciu o dane zawarte w piśmiennictwie, Doktorantka przedstawiła w rozdziale „Założenia i cel pracy” krótkie uzasadnienie podjętych badań i postawiła 3 hipotezy badawcze, z których hipoteza pierwsza zakładająca, że „neuroendokrynowa regulacja sekrecji GnRH/LH u owcy, zmieniająca się w zależności od stanu fizjologicznego, może zachodzić na poziomie molekularnym i angażować różne mechanizmy neuronalne” wydaje się być już nieaktualna w roku 2008, kiedy to ukazały się wyniki badań Ciechanowskiej. Hipoteza 3 zakładająca, że GnRH może być istotną częścią neuralnego mechanizmu regulującego uwalnianie GnRH/LH z układu podwzgórzowo-przysadkowego powinna uwzględniać ekspresję genów ponieważ udział GnRH w mechanizmie regulującym jego uwalnianie został wcześniej wykazany, co zresztą Doktorantka podaje we wstępie. Dlaczego w celach badawczych nie podano, że oceniany będzie również wpływ na wydzielanie LH? Niewłaściwe jest powoływanie się w założeniach pracy na publikację Ciechanowska i wsp., 2010, która jest pracą przeglądową zawierającą wyniki badań będących przedmiotem pracy doktorskiej mgr Łopot. Po dokładnym sprawdzeniu okazuje się, że w pierwszych 2 akapitach tego rozdziału pojawiły się „zapożyczenia” (przedstawione w załączniku) z autoreferatu Pani Promotorki. Te „zapożyczenia” stawiają pod znakiem zapytania umiejętność Doktorantki w formułowaniu uzasadnienia podjętych badań i hipotez. Te wątpliwości znajdują potwierdzenie w

dołączonych oświadczeniach współautorów publikacji, w których Doktorantka nie wykazała swojego udziału w powstawaniu koncepcji pracy w odniesieniu do wszystkich publikacji.

Rozdział „Materiał i metody” z reguły jest miejscem, w którym doktoranci przedstawiają swoją znajomość metod i technik badawczych oraz zastosowanych modeli doświadczalnych. Rozdział ten Doktorantka opracowała bardzo niestarannie. W opisie grup doświadczalnych brakuje odniesienia do zwierząt kontrolnych, u których nie wykonywano zabiegów operacyjnych (tzw. intact), podczas gdy są one ujęte w tabeli (grupa intact nie występuje również w opisie metod w publikacjach). Nie podano czy produkty reakcji PCR były sekwencjonowane (w publikacji jest ta informacja). Właściwsze byłoby określenie pomiar przyrostu produktu amplifikacji w czasie zamiast określenie pomiar ilości kopii badanych genów (str. 45). Na str. 42., w podrozdziale 3.5.2. zupełnie się zgubiłam. Doktorantka wcześniej nie odnosiła się do swoich publikacji, w których stosowała omawiane metody, a w tym podrozdziale podaje prace, w których poziom ekspresji GnRH i GnRHR określano metodą Real-Time PCR, tj Ciechanowska i wsp., 2008 a i 2008 b, ale nie podaje, że ta metoda była również stosowana w pracy Łapot i wsp. 2008. W wykazie literatury brak publikacji Ciechanowska i wsp., 2008 b (praca ta ukazała się w 2009 roku). Ten fragment skłonił mnie do porównania tekstu pracy doktorskiej mgr Łapot z pracą doktorską Pani Promotorki. Po sprawdzeniu jestem skłonna stwierdzić, że rozdział został napisany, w znacznej jego części, na podstawie pracy doktorskiej Pani Promotorki (podobieństwa przedstawione w załączniku). Występowanie w tekście tych samych błędów literowych i formatowania może wręcz wskazywać, że Doktorantka pisała tę część tekstu na matrycy tego doktoratu. Porównanie obu tekstów wyraźnie wskazuje miejsca, w których wyrazy zostały celowo zmienione. Pragnę zauważyć, że w odniesieniu do doktoratu rozdział ten pozwala recenzentom na poznanie znajomości metod badawczych doktorantów. Stąd, występowanie wielu „zapożyczeń” nie pozwala na pozytywną ocenę znajomości metodyki badań naukowych i umiejętności jej wykorzystania, a co za tym idzie - umiejętności samodzielnego prowadzenia pracy naukowej przez Doktorantkę. Załączone oświadczenia współautorów tej oceny nie zmieniają. Wręcz przeciwnie, skłaniają mnie do jeszcze większej dociekliwości.

Od wielu lat prowadzę badania na bardzo zbliżonym modelu i wiem, że przeprowadzenie doświadczeń w oparciu o taki model wymaga równoległej pracy wielu członków zespołu. Stąd bardzo mnie zdziwiło oświadczenie Współautorów, wg którego nikt z nich nie uczestniczył w przeprowadzeniu doświadczeń *in vivo* (48 owiec, w tym 36 z implantacją kaniuli do III komory mózgu i dokomorowymi infuzjami co się wiąże z masą zabiegów operacyjnych, pobieraniem krwi, uśmiercaniem zwierząt i pobieraniem materiału do badań). Tylko mgr Łapot wykazała udział w wykonywaniu doświadczeń (!?). To jest jakieś wielkie nieporozumienie! Z całą świadomością podkreślam, że wykonanie procedur doświadczeń *in vivo*, ujętych w przedstawionych publikacjach przez jedną osobę jest niemożliwe! W

oświadczeniach Doktorantka nie deklaruje udziału w analizie stężenia LH metodą RIA i opracowywaniu tych wyników, co skłania mnie do wniosku, że Doktorantka nie stosowała tej metody (udział w oznaczeniach RIA i opracowaniu uzyskanych wyników z RIA deklarują odpowiednio Krystyna Mateusiak i Tomasz Misztal). Wg oświadczeń Doktorantka deklaruje, we wszystkich pracach, udział w wykonywaniu analiz Real-Time PCR ale nigdzie nie podaje, że uczestniczyła w interpretacji wyników. Informacja ta widnieje przy Pani Ciechanowskiej w 2 publikacjach, w których jest pierwszym autorem. Pani Ciechanowska podaje też udział w przygotowaniu dyskusji w 3 publikacjach. Doktorantka nie określiła czy uczestniczyła w zaprojektowaniu starterów dla amplifikacji genu GnRH i GnRH-R (GAPDH pochodził z Instytutu Biochemii i Biofizyki PAN). Te same startery były stosowane w badaniach prowadzonych przez Ciechanowską (praca doktorska i publikacje). To bardzo zubaża ilość metod stosowanych przez Doktorantkę. Z oświadczeń wynika, że Doktorantka przeprowadziła analizę statystyczną wyników zawartych tylko w publikacji, w której jest pierwszym autorem. Tylko w tej publikacji istotność różnic testowano testem t, w pozostałych była to jednoczynnikowa analiza wariancji, której nie wymieniono w manuskrypcie pracy doktorskiej. Swoją udział w tej publikacji określa na poziomie 60% (na co składa się udział w wykonaniu doświadczeń i analiz Real-Time PCR, opracowaniu wyników, statystyce, przygotowaniu manuskryptu). Doktorantka ocenia swój wkład w pozostałych dwóch publikacjach, w których jest drugim autorem na poziomie 55%. Moje zdziwienie budzi fakt, że Doktorantka nie jest pierwszym autorem (lub autorem korespondencyjnym) pomimo tak znacznego wkładu pracy. Może to wskazywać, że udział Doktorantki w tych pracach jest zawyżony na niekorzyść innych Współautorów.

W świetle ówczesnego stanu wiedzy uzyskane przez Doktorantkę wyniki mają charakter nowatorski. Po raz pierwszy wykazano, że zarówno układ DA-ergiczny, GABA-ergiczny, jak i GnRH uczestniczą w regulacji ekspresji genów kodujących GnRH i GnRH-R w układzie podwzgórzowo-przysadkowym owcy. W okresie spokoju płciowego (sezonowe anestrus), zablokowanie receptorów DA-2 za pomocą sulpirydu znacząco zmniejszyło poziom ekspresji mRNA genu GnRH w obszarze brzuszno-przyśrodkowego podwzgórza (VMH), natomiast nie zmieniło w obszarze przedwzrokowym (POA) i w przednim podwzgórz (AH). Z kolei ekspresja genu GnRH-R zmniejszyła się istotnie w VM i SME oraz wzrosła w obszarze POA i AH i w części gruczołowej przysadki (AP). We krwi owiec otrzymujących sulpiryd stwierdzono wyższe stężenie i częstotliwość pulsów LH w stosunku do zwierząt kontrolnych, co również potwierdziło prawidłową reakcję owiec na zablokowanie receptora. W odniesieniu do GABA, stwierdzono, że stymulacja (infuzja muscimolu) lub hamowanie (infuzja bikukuliny) receptorów GABAA u owiec w okresie fazy pęcherzykowej cyklu odpowiednio zmniejsza lub zwiększa ekspresję genów GnRH i GnRH-R we wszystkich w/w obszarach podwzgórza i w przysadce oraz wpływa analogicznie na stężenie i częstotliwość pulsów LH. W wyniku badań przeprowadzonych na owcach w okresie sezonowego anestrus

zaobserwowano, że przerywana infuzja GnRH do III komory mózgu nie wpływa na ekspresję genu GnRH w obszarze POA i AH, natomiast istotnie zwiększa ekspresję tego genu w VMH oraz genu GnRH-R we wszystkich badanych obszarach układu podwzgórzowo-przysadkowego oraz zwiększa stężenie, częstotliwość i amplitudę pulsów LH. Należy podkreślić, że wszystkie wyniki zawarte w doktoracie zostały umieszczone również w publikacjach co potwierdza, w świetle ówczesnej wiedzy, ich wartość naukową.

Obejmujący 14 stron rozdział „Dyskusja”, jest prowadzony oddzielnie dla układu DA-ergicznego, GABA-ergicznego i GnRH co odzwierciedla również wyznaczone cele badań. Uzyskane wyniki zostały przedyskutowane w kontekście ówczesnego stanu wiedzy, jak również w odniesieniu do najnowszego piśmiennictwa. Ponownie podkreślę, że rozumiem takie podejście i uznaję je za zasadne. Jednakże nie odpowiada mi sposób, w jaki Doktorantka prowadzi czytelnika, szczególnie w części poświęconej układowi DA-ergicznemu. W przypadku zablokowania receptorów D2 można się spodziewać raczej wzrostu poziomu mRNA dla genu GnRH a nie spadku. W publikacji przedstawiającej te wyniki (publikacja I) autorzy podkreślają trudność interpretacji uzyskanych wyników wskazując na brak informacji dotyczących degradacji mRNA i translacji w procesie biosyntezy GnRH. W doktoracie Doktorantka ten aspekt pomija przechodząc bezpośrednio do wyników późniejszych badań Ciechanowskiej i wsp. (2017) wykazujących wzrost stężenia białka GnRH w wyniku zablokowania receptora D2. Lepsze byłoby wskazanie, że późniejsze badania zespołu pod kierunkiem dr hab. Magdaleny O. Ciechanowskiej, którego Doktorantka jest członkiem, dostarczyły brakujących informacji na podstawie których potwierdzono, że układ DA-ergiczny, poprzez receptor D2, bierze udział w regulacji biosyntezy GnRH i GnRH-R w układzie podwzgórzowo-przysadkowym owcy w okresie sezonowego anestrus. Doktorantka nie podkreśliła również swojego uczestnictwa w badaniach wskazujących, że u owiec hamowanie, w okresie sezonowego anestrus, biosyntezy GnRH i GnRH-R przez układ dopaminergiczny może zachodzić z udziałem Kiss 1 i RFRP-3. Odnoszę wrażenie, że w tej części dyskusji Doktorantka omawia częściej wyniki późniejszych badań Ciechanowskiej, niż badań własnego doktoratu. Dyskusja dotycząca udziału GnRH w regulacji ekspresji genu GnRH i GnRH-R jest przeprowadzona z dużą swobodą wskazującą na dobrą znajomość piśmiennictwa i tematyki również tego zagadnienia. Szkoda, że Doktorantka nie zdecydowała się na umieszczenie w doktoracie dyskutowanych w tej części wyników późniejszych badań własnych (Łapot i wsp., 2017) przeprowadzonych na poziomie białka z zastosowaniem 2-krotnie (a nie jak podano w doktoracie 10-krotnie) niższej dawki GnRH. Podobnie sprawnie Doktorantka prowadzi część dyskusji dotyczącą udziału układu GABA-ergicznego i tak jak poprzednio nie potrafi umiejętnie podkreślić swojego udziału w kontynuacji tych badań (Ciechanowska i wsp., 2019). Swoją drogą ciekawi mnie czy udział Doktorantki w tych badaniach był na tyle istotny żeby pozwolić na umieszczenie ich części w doktoracie?

Kolejny rozdział – „Wnioski” zawiera pięć punktów. O ile pierwsze cztery wnioski są prawidłowe, to ostatni wniosek budzi moje wątpliwości, ponieważ nie wynika z przeprowadzonych analiz statystycznych, w których porównywano tylko grupę badawczą z grupą kontrolną. Nie analizowano istotności różnic pomiędzy badanymi obszarami podwzgórza w odniesieniu do ekspresji GnRH, jak i GnRHR.

Bibliografia rozprawy jest bogata i zawiera trafnie dobrane pozycje piśmiennictwa. Nie mniej jednak, została opracowana niestarannie. W wykazie brakuje kilku artykułów lub źle przypisano im datę opublikowania:

1. Attardi i wsp., 1997 (str. 24.),
2. Caraty i wsp., 1990 (str. 65.),
3. Cho i wsp., 1994 (str. 24.),
4. Ciechanowska i wsp., 2008b (czy chodzi o 2009, której to publikacji też nie ma)
5. Curlewis i wsp., 1991 (str. 35.),
6. Havern i wsp., 1991 (str. 35, czy raczej chodzi o publikację z 1994, która jest w wykazie),
7. Seong i wsp., 1995 (str. 35., czy raczej chodzi o publikację z 1998, która jest w wykazie)

PODUMOWANIE I WNIOSKI KOŃCOWE

W podsumowaniu recenzji stwierdzam, że Rozprawa doktorska mgr Magdaleny Łapot stanowi oryginalne rozwiązanie problemu naukowego, a uzyskane wyniki wnoszą istotny wkład w poznanie molekularnego mechanizmu neuronalnej regulacji sekrecji GnRH/LH u owiec i tym samym w rozwój dyscypliny zootechnika i rybactwo. Badania te zostały dostrzeżone zarówno przez krajowe, jak i zagraniczne ośrodki naukowe, o czym świadczy 27 cytowań w bazie Web of Sciences na dzień 14 czerwca 22 r.: Ciechanowska i wsp., 2008 (6), Łapot i wsp., 2008 (27) i Ciechanowska i wsp., 2009 (10).

Mam jednak wątpliwości czy przedstawione w pracy wyniki powstały z dominującym udziałem Doktorantki. Mgr Magdalena Łapot jest pierwszym autorem tylko jednej publikacji (publikacja II), w której ocenia swój udział na poziomie 60%, w pozostałych publikacjach jest drugim autorem pomimo deklarowanego udziału na poziomie 55%. W oparciu o złożone deklaracje Współautorów uważam, że udział Doktorantki w pozostałych publikacjach jest znacznie zawyżony, szczególnie w sytuacji, gdy nie deklaruje ona udziału w powstaniu koncepcji badań, przeprowadzeniu niektórych analiz, w tym analiz statystycznych i interpretacji uzyskanych wyników.

Z uwagi na dużą liczbę „zapożyczeń” z prac autorstwa Pani Promotor, które zauważyłam w manuskrypcie, mam wątpliwości co do samodzielności Doktorantki w napisaniu niektórych rozdziałów pracy doktorskiej. Zauważone przeze mnie zapożyczenia zostały przedstawione w załączniku do recenzji. Raport antyplagiacyjny wykonany w systemie JSP (Jednolity System Plagiatowy), który został na moją

prośbę przesłany z IFiZZ PAN w Jabłonie wykazał niski stopień podobieństwa. Jednak informacja uzyskana z tego samego źródła wskazuje, że praca doktorska Magdaleny O. Ciechanowskiej nie była wysłana do repozytorium, co znacznie ogranicza bazę dostępnych dokumentów dla systemu JSP.

W związku z powyższym stwierdzam, że recenzowana rozprawa doktorska mgr Magdaleny Łopot pt. *„Wybrane mechanizmy neuronalnej regulacji ekspresji genu GnRH i genu receptora GnRH w układzie podwzgórzowo-przysadkowym owcy”* nie spełnia wymogów ustawowych stawianych pracom doktorskim i w związku z powyższym zwracam się do Wysokiej Rady Instytutu Fizjologii i Żywienia Zwierząt im Jana Kielanowskiego PAN w Jabłonie z wnioskiem o niedopuszczenie Doktorantki do publicznej obrony.

Olsztyn, 26 lipca 2022

