

dr hab. Anita Franczak, prof. UWM
Katedra Fizjologii Zwierząt
Wydział Biologii i Biotechnologii
Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie

Ocena rozprawy doktorskiej Pani mgr Katarzyny Kirsz pt. "Oddziaływanie fotoperiodu na interakcje pomiędzy wybranymi hormonami zaangażowanymi w utrzymanie homeostazy energetycznej u owiec"

Przedstawiona do recenzji rozprawa doktorska Pani mgr Katarzyny Kirsz została wykonana w Katedrze Biotechnologii Zwierząt Wydziału Hodowli i Biologii Zwierząt Uniwersytetu Rolniczego im. Hugona Kołłątaja w Krakowie pod kierunkiem Pani prof. dr. hab. Doroty Zięby-Przybylskiej. Przeprowadzone badania były zrealizowane w ramach Projektu Badawczego Własnego Nr N 311 318436 MNiSzW.

Głównym celem rozprawy było określenie oddziaływania zmieniającego się zależnie od pory roku środowiska na interakcje zachodzące między wybranymi hormonami regulującymi homeostazę energetyczną oraz status hormonalny samic m.in. związany z ich rozrodem. Wiadomo, że takie interakcje warunkują przeżycie zwierząt w okresach o zmniejszonej dostępności pokarmu. Podjęty temat uważam zatem za niezwykle ciekawy, ponieważ u zwierząt żyjących w strefie umiarkowanej dostępność pożywienia jest uzależniona od pory roku i zmieniającej się długości dnia. U zwierząt tych obserwuje się zjawisko fotoperiodyzmu związanego z działaniem zegara biologicznego, z którym związane są m.in. rytmy wydzielania hormonów warunkujących ich okresową rozrodczość. Co ciekawe zwierzęta takie, na podstawie zmieniającej się długości dnia, potrafią "przewidzieć" sezonowe zmiany zarówno w temperaturze otoczenia, jak i w dostępności pokarmu oraz przygotować się do nich z wyprzedzeniem. Zatem niezwykle ważnym elementem możliwości adaptacyjnych zwierząt jest zdolność organizmu do cyklicznych zmiany tempa metabolizmu, statusu hormonalnego, a w konsekwencji aktywności rozrodczej. W mojej opinii Doktorantka podjęła się zbadania bardzo istotnego problemu oddziaływania fotoperiodu na sekrecję hormonów odpowiedzialnych za rozród i gospodarkę energetyczną organizmu, a także przedstawienia interakcji między tymi hormonami. Problem ten jak dotąd nie jest poznany, a z powodu tego iż dotyczy nie tylko zwierząt, ale w dużej mierze również człowieka, jest niezwykle ciekawy.

Na podkreślenie zasługuje fakt, iż rozprawa składa się z dwóch części. W pierwszej z nich Doktorantka skupiła się na zbadaniu relacji zachodzących pomiędzy przedstawicielami dwóch antagonistycznych układów warunkujących gospodarkę energetyczną organizmu, tj. między mediatorami/sygnałami układu oreksygenicznego - grelina i oreksyny oraz

mediatorami/sygnałami układu anoreksygenicznego - leptyna. Należy wysoko ocenić wysiłek Doktorantki włożony w wykonanie licznych i złożonych doświadczeń. Dotychczas bowiem nie brano pod uwagę aspektu długości dnia w kształtowaniu się odpowiedzi podwzgórza na działanie leptyny. Badania Doktorantki można uznać zatem za pionierskie. W pierwszej części ocenianej pracy można również znaleźć "drugi wątek/nurt" badań tj. doświadczenia dotyczące wpływu na funkcjonowanie szyszynki czynników nie związanych ze światłem słonecznym (można by się zastanawiać czy jednak słusznie określanych przez Doktorantkę "niefotycznymi"?), tj. sygnałów związanych z pobieraniem pokarmu. Kolejna - druga część pracy - dotyczy wpływu leptyny, oreksyny A i greliny na regulację funkcjonowania przysadki i wydzielanie LH i GH.

Doktorantka wykonała badania na modelu owiec - gatunku unikalnym pod względem przystosowania się do okołorocznych zmian w otaczającym środowisku. Gatunek ten, jako jedyny wśród zwierząt gospodarskich, jest tak dobrze przystosowany do życia w środowisku o zmiennym fotoperiodzie. U owiec wyraźnie obserwuje się wpływ długości dnia zarówno na ilość pobieranego pokarmu, jak i na aktywność rozrodczą. Podjęcie się zatem zbadania problemu oddziaływania fotoperiodu na interakcje pomiędzy wybranymi hormonami zaangażowanymi w utrzymanie homeostazy energetycznej należy uznać za wyzwanie nowatorskie, a dla biologa zajmującego się badaniem rozrodu kręgowców - pasjonujące i bardzo ważne.

W pierwszym podrozdziale Wstępu pracy Doktorantka zawarła przekonujące dane i przesłanki, które skłoniły Ją do podjęcia opisywanych badań. W kolejnych częściach Wstępu dokonała wnikliwego przeglądu piśmiennictwa, opisując aktualny stan wiedzy o leptynie i grelinie, udziale tych hormonów w regulacji homeostazy energetycznej organizmu, a także o interakcji między leptyną a greliną i oreksynami oraz o wpływie fotoperiodu na aktywność tych hormonów. Kolejna część wstępu to precyzyjna prezentacja i analiza dotychczasowej wiedzy na temat melatoniny i jej związku z leptyną, greliną i oreksynami. Uważam, że ta część pracy jest napisana niemal perfekcyjnie. Dowodzi dobrej znajomości tematu i doskonałego teoretycznego przygotowania Doktorantki do zgłębiania podjętego problemu badawczego. Ponadto wstęp pracy dowodzi, iż Doktorantka dobrze opanowała umiejętność dokonywania selekcji i analizy wiedzy dotyczącej badanych zagadnień. To umiejętność ważna i nieczęsto spotykana u początkującego badacza.

W mojej opinii niezwykle przekonujące jest uzasadnienie podjęcia badań ponieważ rzeczywiście, o ile udział leptyny, greliny i oreksyn w procesach związanych z rozrodem i poziomem metabolizmu u zwierząt jest już dobrze poznany, o tyle wciąż niewiele wiadomo o ich wzajemnych interakcjach, zwłaszcza występujących podczas sezonowych zmian długości dnia świetlnego. Doktorantka przedstawiła "założenia badawcze i cele pracy", jednak nie przedstawiła precyzyjnych hipotez badawczych. Należy podkreślić, że każda praca naukowa wymaga jasnego określenia i doprecyzowania hipotez badawczych, które następnie są weryfikowane. Można przypuszczać, że hipotezy badawcze to prezentowane przez Doktorantkę "założenia badawcze". Czy jednak nie należałoby przedstawić ich w formie hipotez badawczych? Proszę o ustosunkowanie się do mojej wątpliwości.

Doktorantka dokładnie opisała cztery układy przeprowadzonych doświadczeń, podzielone na dwie części tematyczne i uwzględniające: **część I** - sezonowe zmiany w interakcjach pomiędzy leptyną, oreksyną B i greliną oraz ich wpływ na profil wydzielania melatoniny oraz **część II** - rolę leptyny, oreksyny A i greliny w regulacji wydzielania LH i GH. Wysoko oceniam sposób przedstawienia tego fragmentu rozprawy, uwzględniającego dwie części tematyczne. Każda z nich poprzedzona jest bowiem przejrzystym wprowadzeniem umożliwiającym czytelnikowi zapoznanie się z uzasadnieniem podjętych badań szczegółowych, a następnie zawiera rozdziały: Materiał i metody, Wyniki i obszerną Dyskusję. Po rozdziale "Dyskusja" drugiej części tematycznej w pracy znajduje się Podsumowanie wszystkich uzyskanych wyników oraz Wnioski. Ostatni rozdział pracy stanowi Streszczenie (zarówno w języku polskim i angielskim) oraz Bibliografia, na którą składa się 337 pozycji piśmiennictwa, w tym ponad 250 prac opublikowanych w latach 2000-2014. Przedstawiona do recenzji rozprawa ma zatem nowatorski, nietypowy dla tego rodzaju publikacji układ. Zazwyczaj bowiem streszczenie w języku polskim i w języku angielskim poprzedza rozdziały: Wykaz skrótów, Wstęp, Cele pracy, Materiał i Metody, Wyniki, Dyskusja, Wnioski oraz Literatura. Zamieszczony w pracy wykaz skrótów stosowanych w pracy nie jest jednak kompletny - brakuje na przykład wyjaśnienia skrótu grelina (GHRL), leptyna (LEPT), SLAN.

Na podkreślenie zasługuje fakt, iż wszystkie metody badawcze zastosowane w pracy opisano precyzyjnie i prawidłowo. Można by jednak uwzględnić uzasadnienie dla stosowanych dawek leptyny, oreksyny B oraz greliny oraz czasu inkubacji *in vitro* w doświadczeniu, w którym badano udział zmieniającej się długości dnia oraz leptyny, oreksyny B i greliny w regulacji uwalniania melatoniny przez szyszynkę *in vitro*. A zatem na jakiej podstawie wybrano dawki stosowanych czynników w badaniach *in vitro*? Czy i w jaki sposób badano przeżywalność szyszynki w hodowli *in vitro*? I czy rzeczywiście inkubację prowadzono w 5% CO₂ w atmosferze, a nie w mieszaninie 95% O₂ i 5% CO₂? Należy podkreślić, że Doktorantka zadbała o uzasadnienie ustalenia dawek leptyny, oreksyny B i greliny infundowanych do III komory mózgu owiec w badaniach *in vivo*. Należałoby również precyzyjniej opisać grupy doświadczalne (str. 43).

W doświadczeniu dotyczącym wpływu zmieniającej się długości dnia oraz dokomorowych infuzji leptyny, antagonisty receptora leptyny, oreksyny B i greliny na wydzielanie oreksyny B, greliny i melatoniny, jako model doświadczalny, wykorzystano układ rotacyjny, w którym każdą z czterech owiec losowo przemieszczano z jednej grupy doświadczalnej do drugiej i każda z macierek w odstępie dwóch tygodni otrzymywała w dokomorowej infuzji płyn Ringera-Locke'a (w jakiej objętości?) lub odpowiedni czynnik doświadczalny. Dla lepszej przejrzystości tego opisu należałoby doprecyzować grupy doświadczalne I, II i III. Autorka opisuje jedynie postępowanie w przypadku grupy doświadczalnej IV i V. Wyrażam uznanie dla ogromu pracy włożonej przez Doktorantkę w przeprowadzenie tak licznych eksperymentów, zarówno z wykorzystaniem modelu *in vivo*, jak i *in vitro* i z uwzględnieniem wpływu zmieniającej się długości dnia. Przeprowadzone eksperymenty wymagały, jak sądzę, ogromnego nakładu pracy.

Bardzo zainteresowało mnie założenie Doktorantki, iż zbadanie relacji między leptyną, greliną i oreksyną B z uwzględnieniem roli zegara biologicznego i endogennych, niezależnych rytmów biologicznych wpływających na przebieg wielu procesów rozrodczych, pozwoli na zrozumienie mechanizmów związanych z utrzymaniem prawidłowego bilansu energetycznego i zjawisk towarzyszących zaburzeniom równowagi energetycznej. Zaburzenia równowagi energetycznej mogą objawiać się bulimią, anoreksją lub otyłością. Bardzo proszę Doktorantkę o rozwinięcie tej koncepcji, interesującej zwłaszcza w kontekście ogólnoswiatowego problemu "skażenia/zanieczyszczenia" światłem. Wiadomo bowiem, że skutki desynchronizacji rytmów biologicznych mogą przyczyniać się do wielu zaburzeń funkcjonowania nie tylko zwierząt, ale i człowieka.

W częściach pracy opisujących uzyskane wyniki otrzymane rezultaty badań Doktorantka zaprezentowała w formie 10 rycin dotyczących części I pracy i 16 rycin dotyczących części II pracy. Doktorantka zdecydowała się zaznaczyć na wykresach małymi różnymi literami średnie arytmetyczne różniące się statystycznie istotnie na poziomie $P < 0.05$ (można by już przyjąć $P \leq 0.05$), zaś dużymi różnymi literami średnie arytmetyczne różniące się wysoce istotnie ($P < 0.01$ i $P < 0.001$). Taki zapis i takie ustalenie bardzo utrudnia czytelnikowi analizę uzyskanych wyników. Bardzo komplikuje nie tylko śledzenie wyników, ale i zależności deklarowanych jako główny cel pracy. Jestem pewna, że przyjęty sposób opracowania wyników był dużym wyzwaniem dla Autorki, ale również jest dużym wyzwaniem dla czytelnika. Bardzo proszę Doktorantkę o uzasadnienie swojej decyzji. Czy nie wystarczyłoby przyjąć, że za różnice statystycznie istotne uznano średnie arytmetyczne różniące się na przy poziomie istotności $P < 0.05$? Ponadto, np. w przypadku Ryc. 4 zapis: "średnie oznaczone różnymi literami w obrębie każdego sezonu różnią się istotnie ($P < 0.05$) (małe litery), wysoce istotnie ($P < 0.01$) i ($P < 0.001$) (wielkie litery)" w mojej opinii nie jest wystarczający. Należałoby wskazać jakie "średnie". Czy w tym przypadku chodzi o średnie stężenia ORX B w osoczu krwi u macierek po infuzji wszystkich zastosowanych czynników doświadczalnych i średnie stężenie ORX B w osoczu krwi u macierek kontrolnych, tj. po infuzji płynu fizjologicznego - Doktorantka analizuje przecież interakcje między zastosowanymi czynnikami. Ponadto, jak rozumiem, oznaczenie "*" lub "***" nie tylko określa poziomu istotności różnic w podstawowej sekrecji hormonu między sezonami (jak opisano np. w przypadku Ryc. 4 ORX B, choć ta uwaga dotyczy również odpowiednich innych wykresów), ale zarówno w sekrecji podstawowej (kontrola), jak i zmienionej pod wpływem infuzji stosowanych czynników (dotyczy właściwie wszystkich rycin w części I pracy).

Niestety przyjęty sposób opisu różnic statystycznych mógł się przyczynić do wystąpienia błędów i rozbieżności w opisie wyników (tekst vs. ryciny). Powodował również potrzebę odniesienia się do opisywanego poziomu istotności różnic statystycznych w dyskusji pracy, czego Autorka nie zawsze się podejmowała. Np. na stronie nr 50 czytamy: "analizując efekt działania egzogennej LEPT wykazano, że obie dawki tego hormonu obniżyły stężenie ORX B w osoczu krwi owiec w okresie SD, względem grupy macierek, którym infundowano płyn Ringera-Locke'a (ryc.4)." Uzyskane wyniki dostarczyły dowodów, że egzogenna leptyna podawana do trzeciej komory mózgu wpływa u owiec hamująco na wydzielanie oreksyny B

zarówno w okresie skracającego, jak i wydłużającego się dnia. Jak wytłumaczyć, że efekt ten nie zależał od długości dnia w przypadku wyższej dawki leptyny, ale był silniejszy w przypadku zastosowania niższej dawki leptyny podawanej w okresie "krótkiego dnia"? Doktorantka wprawdzie odnosi się w tej części dyskusji do danych literaturowych, jednak nie proponuje przekonującej własnej interpretacji tego zjawiska (str. 70). Czy zjawisko okołorocznej wrażliwości podwzgórza owiec na hormon sytości może mieć tu znaczenie?

Wysoko oceniam interpretację wyników własnych dotyczących słabszego wpływu leptyny na sekrecję ORX B podczas dnia długiego w aspekcie danych o wzrastającej w tym czasie aktywności czynnika hamującego sygnalizację cytokinową (SOCS-3), a także dyskusję o oddziaływaniu leptyny na neurony syntetyzujące ORX B, które zbadano z wykorzystaniem wysoko specyficznego "owczego" antagonisty receptora leptyny (SOLA). Ta i kolejne części dyskusji (np. rozważania o zależnościach między greliną i oreksynami) dowodzą zarówno wiedzy, jak i dojrzałości naukowej Doktorantki. I są bardzo ciekawe. Na szczególną uwagę zasługują odkrycia Doktorantki udowadniające, że: **1.** fotoperiod i leptyna są czynnikami, które wpływają, nie tylko, jak wcześniej dowiedziono, na syntezę oreksyn, ale również mogą modulować wydzielanie ORX B; **2.** podczas dnia krótkiego obserwuje się wzmożony hamujący wpływ dokomorowych infuzji leptyny na sekrecję oreksyny B (zjawisko powiązane z okołoroczną modyfikacją wrażliwości podwzgórza na hormon sytości); **3.** podczas dnia długiego wpływ leptyny na sekrecję oreksyny B jest słabszy; **4.** fotoperiod zaangażowany jest w interakcje/zależności między greliną i oreksyną B, które nasilają się w okresie dnia długiego, a osłabiają w okresie dnia krótkiego. Zaobserwowano również zależne od długości dnia i od działania leptyny różnice w wydzielaniu oreksyny B, które rzeczywiście mogą być podstawą mechanizmu adaptacyjnego owiec do zmieniającego się fotoperiodu. Bardzo zainteresowało mnie odkrycie, że nie stwierdzono wpływu fotoperiodu na stężenie endogennej greliny, ale czynnik ten wpływał na stężenie endogennej oreksyny B. W jaki sposób można wyjaśnić to zjawisko? Udowodniono również, że leptyna i warunki świetlne oddziałują na wydzielanie greliny. W jaki sposób, jak przypuszcza Doktorantka, na te oddziaływania może wpływać "genotyp zwierząt, stan fizjologiczny i historia fotoperiodyczna"?

Doktorantka potwierdziła udział leptyny, oreksyny B i greliny na regulację sekrecji melatoniny, włączając się tym samym w nurt badań dotyczących regulacji aktywności pinealocytów szyszynki. To badania pionierskie, które pomogą zrozumieć w jaki sposób hormony metabolizmu energetycznego oddziałują na gruczoł, którego rolą jest integracja informacji świetlnych z nieświetlnymi. Nasuwa się pytanie w jakim stopniu zaprezentowane wyniki uzyskane *in vitro* na modelu owiec można odnieść do funkcjonowania szyszynki u człowieka?

Dyskusja wyników pierwszej części pracy jest bardzo ciekawa, ale jestem przekonana, że przyjęty sposób analizy, prezentacji i opisu wyników jest przyczyną kilku nieścisłości między tekstem a rycinami - dotyczy części I pracy - "Wyniki". Proszę Doktorantkę o ustosunkowanie się do zapisu na str. nr 58 dotyczącego efektu działania antagonisty receptora leptyny w dawce 500 ng/ml (SLAN-3(1)) i 1000 ng/ml (SLAN-3(2)). Należałoby precyzyjnie napisać, że w przypadku zastosowania niskiej dawki antagonisty receptora leptyny SLAN z LEPT 1

zaobserwowano wysoce istotne (a nie "znaczące") zahamowanie aktywności sekrecyjnej szyszynki. Opis wyników badań zawsze wymaga zachowania wyjątkowej precyzji. Jednym z przykładów takiego braku precyzji jest zdanie Autorki: "Natomiast w okresie LD zaprezentowano przeciwny kierunek oddziaływania obu czynników doświadczalnych na sekrecję melatoniny, która na skutek ich współdziałania znacznie wzrosła ($P < 0.05$) w stosunku do grupy kontrolnej oraz uległa obniżeniu ($P < 0.01$) względem ORX B2 (ryc. 11)." str. 59

Proszę również o ustosunkowanie się do zapisu na str. 59. dotyczącego oddziaływania GHRL 1 (w dawce 10 ng/ml) "wspólnie z LEPT". Z ryciny nr 12, do której odsyła Autorka, nie wynika, aby oba hormony przyczyniły się do obniżenia aktywności wydzielniczej szyszynki - w taki sposób w okresie dnia krótkiego zadziałała tylko GHRL. Kolejne zdanie mówiące iż: "w okresie LD obecność GHRL 1 z LEPT w pożywce wiązała się z obniżeniem ($P < 0.01$) stężenia endogennej melatoniny, którego wzrost był stymulowany działaniem GHRL 1 (ryc. 12)" również budzi zastrzeżenia. W stosunku do kontroli takiego zjawiska przecież nie obserwowano. Uprzejmie proszę Doktorantkę o ponowną analizę opisu wyników prezentowanych na rycinie 13. (ostatni paragraf na stronie 59.). Z opisu wynika, że pod wpływem GHRL 2 (w dawce 100 ng/ml) zaobserwowano statystycznie istotny ($P < 0.05$) wzrost sekrecji melatoniny, podczas gdy z ryciny wynika, że obserwowano spadek sekrecji. Moją uwagę zwrócił również brak w części "Wyniki" opisu różnic w oddziaływaniu badanych hormonów na sekrecję melatoniny obserwowaną między sezonami (SD vs. LD), chociaż z ryciny wynika, że w wielu przypadkach były to różnice statystycznie istotne. Może jednak warto byłoby poświęcić nieco więcej uwagi tym wynikom?

Druga część pracy dotyczy roli leptyny, oreksyny A i greliny w regulacji aktywności osi gonado- i somatotropowej, badanej poprzez analizę wydzielania hormonu luteinizującego (LH) i hormonu wzrostu (GH). W tej części pracy eksperymenty przeprowadzono również zarówno z wykorzystaniem modelu *in vivo*, jak i *in vitro*. W badaniach *in vivo* określono zależny od długości dnia wpływ dokomorowych infuzji leptyny, oreksyny A i greliny na profil wydzielania LH i GH (doświadczenie 3), zaś w badaniach *in vitro* zbadano wpływ statusu żywieniowego oraz sezonu rozrodczego owiec na profil wydzielania LH pod wpływem oreksyny A, leptyny, antagonisty receptora leptyny oraz na profil wydzielania GH pod wpływem greliny, leptyny i antagonisty receptora leptyny (doświadczenie 4). Należy podkreślić, że wpływ wymienionych hormonów badano po ich infuzjach do trzeciej komory mózgu - model *in vivo* oraz podczas inkubacji przysadek pochodzących od owiec znajdujących się w stanie dodatniej i ujemnej równowagi energetycznej - model *in vitro*. W celu uwzględnienia możliwego oddziaływania sezonu eksperymenty prowadzono w różnych porach roku i wykazano sezonowe różnice zarówno w sekrecji LH, jak i GH. Nie można mieć wątpliwości, że Doktorantka przyczyniła się do wzbogacenia dotychczasowej (wciąż niepełnej, a nawet niekiedy kontrowersyjnej) wiedzy o zależnościach pomiędzy badanymi wskaźnikami metabolizmu energetycznego a LH i GH u małych przeżuwaczy. Przeprowadzone badania uściśliły zatem wiedzę dotyczącą mechanizmów neuroendokrynych zaangażowanych w kształtowanie się zależności pomiędzy fotoperiodem, leptyną, greliną, oreksyną A a LH i GH u owiec. Opis przebiegu doświadczeń tej części pracy jest jasny, precyzyjnie zdefiniowano grupy doświadczalne. Podobnie, jak w części

I pracy przebieg doświadczenia *in vivo* i doświadczenia *in vitro* zobrazowano schematami. Nie mam żadnych uwag do tej części pracy. W części rozprawy "Wyniki II" - **doświadczenie 3** - Doktorantka zaprezentowała 8 rycin. Przedstawiła m.in. koncentrację LH i GH w osoczu badanych owiec po infuzji: płynu Ringera-Locke'a, leptyny, oreksyny lub antagonisty receptora leptyny z oreksyną oraz po infuzji płynu Ringera-Locke'a, leptyny, greliny lub antagonisty receptora leptyny z greliną. Moja prośba dotyczy wyjaśnienia dlaczego Autorka zdecydowała się "rozdzielić" wyniki prezentowane na rycinie 16. i 18.? Czy konsekwencją takiego postępowania nie jest dwukrotne prezentowanie wyników dotyczących koncentracji LH w osoczu krwi owiec po infuzji płynu Ringera-Locke'a i leptyny? Doktorantka nie dokonuje również żadnego opisu wyników prezentowanych na rycinie 17. i 19 (str. 100 i 102). Podobne uwagi odnoszą się do wyników dotyczących koncentracji GH. W **doświadczeniu 4**. Doktorantka zbadała wpływ statusu żywieniowego oraz sezonu rozrodczego owiec na profil wydzielania LH pod wpływem oreksyny A, leptyny, antagonisty receptora leptyny (SLAN-3) oraz na profil wydzielania GH pod wpływem greliny, leptyny i antagosisty receptora leptyny. Moje zakłopotanie wzbudził opis wyników na stronie 108 - akapit drugi. Z ryciny nie wynika bowiem, aby leptyna statystycznie istotnie zmniejszyła uwalnianie LH do medium hodowlanego (w porównaniu z kontrolą). Jak można wyjaśnić, że w doświadczeniach przeprowadzanych podczas dnia długiego zarówno u owiec karmionych zgodnie z normami żywieniowymi, jak i głodzonych nie zaobserwowano wpływu badanych czynników na sekrecję LH? Niestety muszę stwierdzić, że lektura opisu uzyskanych wyników i przytoczone cytaty są dowodami na dość słabe opanowanie przez Doktorantkę warsztatu opisywania wyników naukowych. Niedosyt jednak rekompensuje dyskusja dotycząca części drugiej pracy.

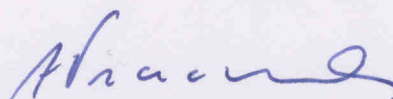
Podobnie, jak w rozdziale "Dyskusja" dotyczącym części I pracy, Doktorantka wykazała się dobrym przygotowaniem do interpretacji uzyskanych wyników oraz dobrą umiejętnością prowadzenia rzeczowej dyskusji. Dyskusja przyciąga czytelnika trafnymi podsumowaniami i bogactwem odniesień do najnowszej literatury. Tę część pracy czytałam i analizowałam z wielką przyjemnością i oceniam ją wysoko.

Podsumowując, przedstawiona do oceny rozprawa dostarczyła wielu interesujących danych. Wprawdzie Doktorantka nie uniknęła błędów i niedociągnięć, jednak zważywszy na rodzaj i zakres przeprowadzonych badań (a zatem wkład pracy Doktorantki) należy je usprawiedliwić. Wyrażam przekonanie, że taką liczbę przeprowadzonych doświadczeń, opisanych i przedyskutowanych wyników można by opublikować w formie dwóch rozpraw doktorskich.

Przedstawiona do oceny praca inspiruje do poszukiwania nowych powiązań i zależności między badanymi zjawiskami, ważnych dla zrozumienia oddziaływania fotoperiodu na interakcje pomiędzy hormonami zaangażowanymi w utrzymanie funkcji rozrodczych i homeostazy energetycznej nie tylko u owiec, ale również u innych gatunków, w tym człowieka. Uzyskane wyniki mogą być inspiracją do dalszych badań nad prawidłowym funkcjonowaniem zwierząt w nieustannie zmieniających się warunkach środowiska zewnętrznego i wewnętrznego na jego różnych poziomach i w różnych aspektach. Na uznanie zasługuje

rozdział pracy pt. "Podsumowanie", ale ideałem byłoby gdyby Doktorantka zaproponowała schemat przedstawiający odkryte przez Nią oddziaływania i interakcje.

Przedstawiona do oceny rozprawa doktorska pt. **"Oddziaływanie fotoperiodu na interakcje pomiędzy wybranymi hormonami zaangażowanymi w utrzymanie homeostazy energetycznej u owiec"** autorstwa Pani mgr Katarzyny Kirsz spełnia wszystkie wymagania określone w Ustawie z dnia 14 marca 2003 roku o stopniach i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz.U. Nr 65, poz. 595 ze zm.) stawiane pracom doktorskim. W związku z powyższym zwracam się do Wysokiej Rady Wydziału Matematyczno-Przyrodniczego Uniwersytetu Jana Kochanowskiego w Kielcach z wnioskiem o dopuszczenie Pani mgr Katarzyny Kirsz do dalszych etapów przewodu doktorskiego.



dr hab. Anita Franczak, prof. UWM

Olsztyn, 19 grudnia 2014 r.