

Dr Agnieszka Waclawik
Zakład Mechanizmów Działania Hormonów
Instytut Rozrodu Zwierząt i Badań Żywności
Polskiej Akademii Nauk
ul. Tuwima 10
10-748 Olsztyn

ZAŁĄCZNIK II

Autoreferat

Rola prostaglandyny E2 w regulacji procesów maczynego rozpoznania ciąży i implantacji zarodka u świni

Olsztyn 2014

1. Dane personalne

Imię i nazwisko **Agnieszka Waclawik**
Miejsce pracy Zakład Mechanizmów Działania Hormonów
Instytut Rozrodu Zwierząt i Badań Żywności
Polskiej Akademii Nauk
ul. Tuwima 10
10-748 Olsztyn

2. Posiadane dyplomy, stopnie naukowe/ artystyczne – z podaniem nazwy, miejsca i roku ich uzyskania oraz tytułu rozprawy doktorskiej.

2006 Doktor nauk biologicznych w dyscyplinie biologia, specjalność endokrynologia, Wydział Biologii (obecnie Wydział Biologii i Biotechnologii, Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie.

Tytuł rozprawy doktorskiej: „Klonowanie oraz charakterystyka ekspresji enzymów syntezy prostaglandyn w zarodku, endometrium i ciałku żółtym świni”,

promotor: prof. dr hab. A.J. Zięcik (praca została zrealizowana w Instytucie Rozrodu Zwierząt i Badań Żywności PAN w Olsztynie), *praca doktorska wyróżniona przez Radę Naukową Wydziału Biologii UWM w Olsztynie*

2001 Magister inżynier biotechnologii: Wydział Biologii, kierunek biotechnologia, specjalność - biotechnologia, Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie.

Tytuł pracy magisterskiej: „Polimorfizm rodziny genów PAG w genomach ssaków łżyskowych”,

promotor: prof. dr hab. Bożena Szafrńska, *dyplom ukończenia studiów z wyróżnieniem*

2001 Międzywydziałowe Studium Pedagogiczne, Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie

3. Informacje o dotychczasowym zatrudnieniu w jednostkach naukowych/ artystycznych.

01.07.2006 - obecnie **Adiunkt**, Zakład Mechanizmów Działania Hormonów (ZMDH), Instytut Rozrodu Zwierząt i Badań Żywności Polskiej Akademii Nauk w Olsztynie

13.10.2003 – 30.06.2006 **Asystent**, Zakład Mechanizmów Działania Hormonów, Instytut Rozrodu Zwierząt i Badań Żywności Polskiej Akademii Nauk w Olsztynie

15.10.2002 – 12.10.2003 **Technolog**, Pracownia Biologii Zarodka, Zakład Mechanizmów Działania Hormonów, Instytut Rozrodu Zwierząt i Badań Żywności Polskiej Akademii Nauk w Olsztynie

01.12.2001 – 22.06.2006 studia doktoranckie na Wydziale Biologii, Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie

4. Wskazanie osiągnięcia* wynikającego z art. 16 ust. 2 ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. nr 65, poz. 595 ze zm.):

A) tytuł osiągnięcia naukowego/artystycznego

Osiągnięciem naukowym będącym podstawą złożonego wniosku o przeprowadzenie postępowania habilitacyjnego jest cykl publikacji przedstawionych pod wspólnym tytułem: **„Rola prostaglandyny E2 w regulacji procesów maczynego rozpoznania ciąży i implantacji zarodka u świni”**.

B) (autor/autorzy, tytuł/tytuły publikacji, rok wydania, nazwa wydawnictwa)

- I. **Waclawik A.***, Blitek A., Ziecik A.J. (2010) Oxytocin and tumor necrosis factor α stimulate expression of prostaglandin E2 synthase and secretion of prostaglandin E2 by luminal epithelial cells of the porcine endometrium during early pregnancy. *Reproduction* 140:613-622. (IF=3,049; MNiSW₂₀₁₀=24, liczba cytowań 12)
- II. **Waclawik A.***, Jabbour H.N., Blitek A., Ziecik A.J. (2009) Estradiol-17 β , prostaglandin E2 (PGE2) and the prostaglandin E2 receptor are involved in PGE2 positive feedback loop in the porcine endometrium. *Endocrinology* 150:3823-3832. (IF=4,752; MNiSW₂₀₀₉=24, liczba cytowań 31)
- III. **Waclawik A.*** (2011) Novel insights into the mechanisms of pregnancy establishment: regulation of prostaglandin synthesis and signaling in the pig. *Reproduction* 142:389-399. (IF=3,090; MNiSW₂₀₁₁=35, liczba cytowań 15)
- IV. **Waclawik A.***, Kaczynski P., Jabbour H.N. (2013) Autocrine and Paracrine Mechanisms of Prostaglandin E2 Action on Trophoblast/Conceptus Cells through the Prostaglandin E2 Receptor (PTGER2) during Implantation. *Endocrinology* 154:3864-3876. (IF=4,717; MNiSW₂₀₁₂=40, liczba cytowań 1)

IF podano zgodnie z rokiem opublikowania, punkty MNiSW podano zgodnie z listą, która obowiązywała w czasie opublikowania czasopisma. Oświadczenia współautorów określające ich indywidualny wkład zamieszczono w Zał. 5.

Łącznie dla w/w cyklu publikacji:

Sumaryczny współczynnik oddziaływania (IF - *Impact factor*) = **15,608**

Liczba cytowań = **59**

Sumaryczna ilość punktów MNiSW = **123**

Sumaryczna ilość punktów MNiSW według obecnie obowiązującej listy z roku 2013 = **140**

Prace finansowane były w ramach następujących projektów przyznanych przez MNiSW, w których dr Agnieszka Waclawik była kierownikiem:

(1) własnego nr N N311 319135;

(2) międzynarodowego w ramach COST ACTION FA0702 nr DWM/N106/COST/2008;

(3) luventus nr IP2011 058371;

oraz grantu (4) Short Term Scientific Missions by COST (GEMINI)-STSM-FA0702-03685.

* autor korespondencyjny

C) omówienie celu naukowego/artystycznego ww. pracy/prac i osiągniętych wyników wraz z omówieniem ich ewentualnego wykorzystania

Wprowadzenie

Przedstawiane osiągnięcie naukowe stanowi jednotematyczny cykl publikacji poświęconych wyjaśnieniu mechanizmu oddziaływania prostaglandyny E₂ (PGE₂) na błonę śluzową macicy i zarodek świni podczas wczesnej ciąży. W tym okresie dochodzi do wzajemnych interakcji pomiędzy zarodkami a macicą i jajnikami w celu podtrzymania syntezy progesteronu w ciałku żółtym oraz przygotowania macicy do zagnieżdżenia zarodków. Krytycznymi procesami warunkującymi ustanowienie oraz rozwój ciąży są tzw. maczyne rozpoznanie ciąży i implantacja zarodka. W tym okresie ciąży obserwowana jest najwyższa śmiertelność zarodków u wielu gatunków zwierząt. U świni maczyne rozpoznanie ciąży ma miejsce pomiędzy 10 a 13 dniem po zapłodnieniu. Natomiast, w zależności od źródeł, podaje się, że implantacja zarodka świni zachodzi od 14 dnia do 19 a nawet 25 dnia ciąży. Zamieralność zarodków kształtuje się wtedy do 40% (Bolet, 1986). Przyczyny nieskutecznych implantacji związane są z nieprawidłowym funkcjonowaniem zarodka (np. na skutek czynników genetycznych czy braku odpowiedniej sygnalizacji zarodkowej), jak również z receptywnością macicy, czyli stanem przygotowania macicy do implantacji zarodka. Zarówno u zwierząt gospodarskich, jak i u człowieka nie jest dokładnie poznana sekwencja zdarzeń na poziomie komórkowym i molekularnym podczas okresu maczynego rozpoznania ciąży i implantacji.

U świni, podczas maczynego rozpoznania ciąży, pomiędzy 10 a 13 dniem, zarodki sygnalizują swoją obecność organizmowi matki poprzez wzmożoną syntezę i sekrecję estrogenów, a w szczególności estradiolu-17 β (E₂) (Perry i Heap, 1973; Bazer i Thatcher, 1977; Geisert i wsp., 1990). Drugi okres podwyższonej sekrecji estrogenów przez zarodek ma miejsce od 15 do 30 dnia ciąży, co również odgrywa istotną rolę w podtrzymaniu syntezy progesteronu (Geisert i wsp., 1990). Estrogeny u świni wykazują działanie luteotropowe i antyluteolityczne. Luteotropowy efekt estrogenów polega na bezpośrednim zwiększeniu sekrecji progesteronu i stymulacji wzrostu ciałka żółtego, natomiast antyluteolityczne oddziaływanie polega na zmniejszeniu pulsacyjnego uwalniania i przenikania z macicy do jajników czynnika luteolitycznego, jakim jest prostaglandyna F₂ α (PGF₂ α). We wczesnym okresie ciąży produkcja tej prostaglandyny nie jest zahamowana, ale średnie stężenie, amplituda i częstotliwość pulsów są niższe niż u loszek w dniach 12-17 cyklu rujowego (Moeljono i wsp., 1977). Natomiast podczas późnej fazy lutealnej cyklu rujowego wzrasta pulsacyjne uwalnianie PGF₂ α z macicy i hormon ten przenika do odgałęzień tętnicy jajnikowej, a następnie do ciałka żółtego, inicjując proces luteolizy.

Dotychczasowe poglądy na temat maczynego rozpoznania ciąży dotyczyły głównie mechanizmu ograniczającego przechodzenie luteolitycznej PGF₂ α z macicy do ciałka żółtego pod wpływem estrogenów we wczesnej ciąży (Bazer i Thatcher, 1977; Krzymowski i wsp. 1990; Stefańczyk-Krzymowska i wsp. 1990; 1992). Jednak powyższe hipotezy nie wyjaśniają w pełni mechanizmu ochrony ciałka żółtego podczas wczesnej ciąży (Hunter i Poyser, 1982; Christenson i Ford, 1995). Wykazano, że podawanie samych estrogenów nie naśladuje w pełni działania zarodka na ciałko żółte u świni (Christenson i Ford, 1995). Uważa

się, że oprócz estrogenów również PGE2 może odgrywać rolę w macicznym rozpoznaniu ciąży jako czynnik luteotropowy. Dane literaturowe sugerują, że ważny jest stosunek zawartości obu prostaglandyn o przeciwstawnym działaniu na ciało żółte w krwi docierającej do jajnika, oraz że zwiększona synteza PGE2 podczas wczesnej ciąży może przyczynić się do przezwyciężenia luteolitycznego wpływu PGF 2α (Christenson i wsp., 1994).

Profile uwalniania prostaglandyn różnią się zasadniczo podczas cyklu rujowego i wczesnej ciąży. W dniach 11-13 po zapłodnieniu, stężenie PGE2 w żyłę maciczo-jajnikowej jest wyższe niż stężenie PGF 2α (Christenson i wsp., 1994). Wzrasta też zawartość PGE2 w świetle macicy w tym okresie (Geisert i wsp., 1982).

PGE2 stymuluje syntezę progesteronu w ciałku żółtym poprzez szlak związany z cAMP u różnych gatunków zwierząt, w tym świni (Hahlin i wsp., 1988; Richards i wsp., 1994; Boiti i wsp., 2000; Weems i wsp., 2006). Prostaglandyny są hormonami działającymi autokrynnie, parakrynnie oraz endokrynnie poprzez grupę receptorów błonowych sprzężonych z białkami G. PGE2 oddziałuje poprzez cztery typy receptorów, które kodowane są przez odrębne geny: PTGER1 (inaczej zwany EP1), PTGER2 (EP2), PTGER3 (EP3), oraz PTGER4 (EP4; Kennedy i wsp., 2007). Badania nad nokautem genów poszczególnych receptorów PGE2 u myszy wskazały na istotne zmiany fenotypowe związane z rozrodem w przypadku wyłączenia genu PTGER2. Wyłączenie ekspresji genu PTGER2 powoduje zaburzenia w procesie owulacji i dramatycznie zmniejsza liczebność miotu (Jabbour i wsp., 2006; Kennedy i wsp., 2007). PTGER2, jak również PTGER4 aktywują wewnątrzkomórkowy szlak transdukcji sygnałów związany z cyklazą adenylanową, kinazą białkową A i wzrostem produkcji cAMP (Jabbour i wsp., 2006).

Osiągnięcie naukowe prezentowane we wniosku do postępowania habilitacyjnego przedstawione zostało w następujących podrozdziałach:

- i) Charakterystyka ekspresji genów i białka receptorów PGE2 w ciałku żółtym świni;
- ii) Mechanizm oddziaływania prostaglandyny E2 na błonę śluzową macicy świni;
- iii) Mechanizm oddziaływania prostaglandyny E2 na zarodek świni.

i) Charakterystyka ekspresji genów i białka receptorów PGE2 w ciałku żółtym świni

Celem przeprowadzonych badań (Wacławik i wsp., 2010; I) była m.in.: **(1)** identyfikacja izoform receptorów PGE2 związanych z aktywacją cAMP w ciałku żółtym oraz **(2)** określenie profilu ekspresji receptorów PGE2 (PTGER2 i PTGER4) w ciałku żółtym podczas cyklu rujowego i wczesnej ciąży u świni.

Badania własne pozwoliły na identyfikację ekspresji genu i białka dwóch izoform receptora PGE2 - PTGER2 i PTGER4 w ciałku żółtym świni (Wacławik i wsp., 2010; I). Zawartość mRNA i białka PTGER2 oraz PTGER4 w ciałku żółtym wzrosła w 14 dniu ciąży w porównaniu z dniami 9 i 11 ciąży. Ponadto, ekspresja mRNA PTGER2 i białka PTGER4 była istotnie wyższa w tkance lutealnej w 14 dniu ciąży w porównaniu z 14 dniem cyklu rujowego. Uzyskane wyniki sugerują, że w czasie ciąży PGE2, po dotarciu do jajników, prawdopodobnie działa luteotropowo przez receptory PTGER2 i PTGER4. Przypuszcza się, że luteotropowe działanie PGE2 może polegać m.in. na podwyższeniu wydzielania czynnika

wzrostu śródbłonna naczyń (VEGFA) przez komórki lutealne (Kowalczyk i wsp., 2008). Można sugerować, że VEGFA zwiększa przepuszczalność naczyń krwionośnych w ciałku żółtym, co z kolei może przyczynić się do ułatwienia transportu substratów do syntezy progesteronu do komórek lutealnych.

Badania te zostały opublikowane w oryginalnej publikacji eksperymentalnej I:

Waclawik A., Blitek A., Ziecik A.J. (2010) Oxytocin and tumor necrosis factor α stimulate expression of prostaglandin E2 synthase and secretion of prostaglandin E2 by luminal epithelial cells of the porcine endometrium during early pregnancy. *Reproduction* 140:613-622.

ii) Mechanizm oddziaływania prostaglandyny E2 na błonę śluzową macicy świni

U zwierząt, synteza prostaglandyn odgrywa istotną rolę w procesie ustanowienia ciąży, gdyż jej zahamowanie prowadzi do przerwania rozwoju zarodka tuż przed rozpoczęciem implantacji bez względu na typ łożyska, od nieinwazyjnego u świni (Kraeling i wsp., 1985) i przeżuwaczy (Erdem i Guzeloglu, 2010) do inwazyjnego u gryzoni (Kennedy i wsp., 2007). U kobiety, obniżona synteza prostaglandyn prowadzi do słabszej receptywności endometrium na implantację zarodka (Achache i wsp., 2010).

Stężenie prostaglandyn oraz wzajemny stosunek ich zawartości w macicy i krwi maciczno-jajnikowej mogą zależeć od aktywności i ekspresji enzymów szlaku syntezy tych hormonów w macicy lub/oraz zarodkach. Prekursorem syntezy prostanoidów jest kwas arachidonowy, który przy udziale syntazy endoperoksydu prostaglandyn (PTGS), zwanej także cyklooksygenazą (COX) ulega przekształceniu do endoperoksydu H₂. Powstały w wyniku aktywności PTGS, endoperoksyd H₂ może być przekształcony w różne prostanoidy. Reakcje te katalizowane są przez enzymy specyficzne dla danego produktu. Za syntezę PGE₂ odpowiada syntaza PGE₂. Wykazano, że w endometrium świni silnie indukowanymi formami syntazy endoperoksydu prostaglandyn i syntazy PGE₂ są odpowiednio: PTGS₂ (znana też jako COX-2 lub PGHS-2; Blitek i wsp. 2006a) oraz mikrosomalna syntaza PGE₂ (mPGES-1; Waclawik i wsp., 2006). Natomiast PGF₂ α może powstawać dzięki aktywności syntazy PGF (PGFS) oraz 9-ketoreduktazy PGE₂ (CBR1), która katalizuje konwersję PGE₂ w PGF₂ α .

Podczas wcześniejszych badań, wykonanych w ramach pracy doktorskiej, sklonowałam oraz zsekwencjonowałam pełne cDNA genów syntazy prostaglandyny F₂ α i syntazy prostaglandyny E₂ u świni (Waclawik, 2006). Umożliwiło to wykazanie selektywnych zmian ekspresji tych enzymów w zarodku, a także w błonie śluzowej macicy świni (Waclawik i wsp., 2006; Waclawik i Ziecik, 2007). Wyniki te sugerują, że okres zwiększonej zawartości mRNA i białka syntazy PGE₂ oraz syntezy PGE₂ w zarodku oraz endometrium odpowiada podwyższonej sekrecji sygnału zarodkowego (estradiolu-17 β) przez zarodek (Waclawik i wsp., 2006; Waclawik i Ziecik, 2007). Ponadto, pomiędzy 10 a 13 dniem ciąży ekspresja PGFS i CBR1 w endometrium oraz zarodku była niska w porównaniu z kolejnymi dniami ciąży. Na podstawie powyższych opublikowanych wyników (Waclawik i wsp. 2006; Waclawik i Ziecik, 2007) postawiłam hipotezę roboczą, która zakładała, że selektywne zmiany w ekspresji enzymów szlaku syntezy prostaglandyn w endometrium w okresie krótko poprzedzającym implantację, zachodzą pod wpływem sygnału

zarodkowego (estradiolu-17 β) oraz PGE2, która także wydzielana jest przez zarodek. W związku z tym, celem badań przedstawionych w publikacji Waclawik i wsp. (2009; II) było: **(1)** zbadanie czy estradiol-17 β oraz PGE2 biorą udział w regulacji ekspresji genów i białek enzymów szlaku syntezy prostaglandyn: PTGS2, mPGES-1, PGFS i CBR1 oraz receptorów PGE2 (PTGER2 i PTGER4) w endometrium u świni; **(2)** określenie profilu ekspresji receptorów PGE2 w endometrium podczas cyklu rujowego i wczesnej ciąży; **(3)** zbadanie czy PGE2 aktywuje w endometrium cAMP-zależny szlak transdukcji sygnału związany z receptorami prostaglandyny E2 (PTGER2 i PTGER4); **(4)** określenie lokalizacji ekspresji białek receptorów PGE2 w macicy świni w czasie cyklu rujowego oraz wczesnej ciąży.

Uzyskane wyniki wykazały, że sygnał zarodkowy - estradiol-17 β zwiększył ekspresję mRNA PTGS2 oraz mRNA i białka syntazy PGE2, a także uwalnianie PGE2 przez endometrium *in vitro* (Waclawik i wsp., 2009; II). Estradiol-17 β obniżył natomiast ekspresję enzymów biorących udział w produkcji PGF2 α . Działanie estradiolu-17 β prowadziło do dwukrotnego wzrostu stosunku zawartości białka syntazy PGE2/ syntazy PGF. Podobny efekt wykazała PGE2. Interesujące jest, że sama PGE2 zwiększyła ekspresję mRNA i białka syntazy PGE2 oraz mRNA PTGS2 w endometrium. PGE2 nie miała natomiast wpływu na ekspresję pozostałych badanych enzymów szlaku syntezy prostaglandyn. Interesującym spostrzeżeniem badań własnych było stwierdzenie, że ekspresja białka syntazy PGE2 była około dwukrotnie wyższa w endometrium pobranym z miejsc implantacji zarodka w porównaniu z ekspresją tego enzymu w endometrium pochodzącym z miejsc okołointplantacyjnych.

Na podstawie otrzymanych wyników oraz wcześniejszych doniesień wskazujących, że synteza PGE2 wzrasta w endometrium i zarodku oraz zawartość tej prostaglandyny zwiększa się w świetle macicy (Waclawik i wsp., 2006; Waclawik i Ziecik, 2007), postanowiłam zbadać czy PGE2 może bezpośrednio oddziaływać na endometrium. Badania własne wykazały, po raz pierwszy na świecie, ekspresję genu i białka dwóch izoform receptorów PGE2, PTGER2 i PTGER4 w endometrium świni (Waclawik i wsp., 2009; II). Tylko ekspresja PTGER2 była znacząco regulowana podczas ciąży. Zawartość mRNA wzrastała od 9 do 15 dnia ciąży. Ekspresja białka PTGER2 była istotnie wyższa w endometrium 11-12 dnia ciąży w porównaniu z 11-12 dniem cyklu rujowego. Ponadto, prezentowane wyniki badań wskazały, że zarówno estradiol-17 β , jak i PGE2 zwiększają ekspresję mRNA/białka receptora PTGER2 w endometrium (Waclawik i wsp., 2009; I). Ekspresja białka PTGER2 była zlokalizowana głównie w nabłonku powierzchniowym i gruczołowym, a także w komórkach stromy endometrium. Stwierdzono ekspresję zarówno białka PTGER2, jak i PTGER4 w komórkach nabłonkowych oraz stromy wyizolowanych z endometrium uzyskanych od loszek będących w 11-12 dniu cyklu rujowego oraz 11-12 dnia ciąży. W odróżnieniu od PTGER2, ekspresja genu PTGER4 nie zmieniała się istotnie podczas cyklu rujowego i ciąży w endometrium. Ekspresja receptora PTGER4 nie była regulowana przez estradiol-17 β ani PGE2 w endometrium.

Wyniki kolejnego doświadczenia wykazały, że PGE2 zwiększa produkcję cAMP w endometrium *in vitro*. Podanie antagonisty receptora PTGER2 równocześnie z PGE2 obniżyło stymulowaną przez PGE2 syntezę cAMP, wskazując, że PGE2 aktywuje szlak związany z cyklazą adenylanową, cAMP oraz kinazą białkową A przez receptor PTGER2 w endometrium u świni.

Podsumowując wyniki prezentowane w publikacji Waclawik i wsp. (2009; II), istotnym odkryciem jest wykazanie istnienia mechanizmu autoamplifikacji PGE2 w endometrium, który ma miejsce prawdopodobnie 11-12 dnia ciąży u świni. Mechanizm ten prawdopodobnie ma związek ze zmianą stosunku luteotropowej PGE2 do luteolitycznej PGF2 α w krwi docierającej do jajników w okresie macicznego rozpoznania ciąży. Przytoczone wyżej badania pozwoliły na stwierdzenie, że sygnał zarodkowy, jakim jest estradiol-17 β , zwiększa ekspresję genów lub białek enzymów biorących udział w syntezie PGE2 - PTGS2 i syntazy PGE2 (mPGES-1) oraz sekrecję PGE2 przez endometrium. Estradiol-17 β wraz z PGE2 zwiększają ekspresję receptora PGE2, PTGER2. Zwiększone ilości PGE2 uwalniane z endometrium i zarodka działając przez receptor PTGER2, aktywują szlak związany z cAMP oraz dodatkowo powodują wzrost ekspresji enzymów biorących udział w syntezie PGE2. Uzyskane wyniki badań przedstawiają nowy potencjalny mechanizm regulujący dodatnie sprzężenia zwrotne syntezy i wydzielania PGE2 w endometrium w okresie tzw. macicznego rozpoznania ciąży, poprzedzającym implantację.

Wyniki te zostały opublikowane w oryginalnej publikacji eksperymentalnej II:

Waclawik A., Jabbour H.N., Blitek A., Ziecik A.J. (2009) Estradiol-17 β , prostaglandin E2 (PGE2) and the prostaglandin E2 receptor are involved in PGE2 positive feedback loop in the porcine endometrium. *Endocrinology* 150:3823-3832.

Kolejnym etapem badań było określenie jakie inne czynniki, oprócz estradiolu-17 β i PGE2, mogą być zaangażowane w regulowanie syntezy prostaglandyn w komórkach endometrium świni podczas ciąży (Waclawik i wsp., 2010; I). Dobrze udokumentowana jest rola oksytocyny (OXT) i czynnika martwicy nowotworu (TNF lub TNF α) w regulacji sekrecji PGF2 α z endometrium podczas późnej fazy lutealnej oraz luteolizy zarówno u przeżuwaczy, jak i u świni (Kieborz i wsp., 1991; Whiteaker i wsp., 1994; Carnahan i wsp., 1996; Edgerton i wsp., 1996; Tysseling i wsp., 1996; Ludwig i wsp., 1998; Uzumcu i wsp., 1998; Kotwica i wsp., 1999; McCracken i wsp., 1999; Blitek i Ziecik, 2005). W badaniach własnych stwierdzono, po raz pierwszy, czy te czynniki mogą regulować syntezę i sekrecję prostaglandyn przez komórki endometrium podczas ciąży u świni (Waclawik i wsp., 2010; I).

U świni OXT syntetyzowana w podwzgórze, wydzielana jest z tylnego płata przysadki, a ciało żółte odgrywa mniejszą rolę w sekrecji tego hormonu podczas luteolizy (Kotwica i wsp., 1990). Jednak istotnym źródłem OXT może być także endometrium (Boulton i wsp., 1996; Vallet i wsp., 1998), ponieważ wykazano ekspresję genu tego hormonu w błonie śluzowej macicy (Boulton i wsp., 1996). Stężenie OXT wzrasta bardzo znacząco w świetle macicy podczas ciąży w dniach 11-14 w porównaniu z zawartością tego hormonu 11-14 dnia cyklu rujowego (Vallet i wsp., 1998). Większość badań *in vitro* nad wpływem OXT na syntezę prostaglandyn dotyczyła okresu luteolitycznego (Whiteaker i wsp., 1994; Tysseling i wsp., 1996; Uzumcu i wsp., 1998; Blitek i Ziecik, 2005). Niemniej jednak receptory OXT obecne są w macicy świni nie tylko w cyklu rujowym (Whiteaker i wsp., 1994), ale też w ciąży (Okano i wsp., 1996; Ludwig i wsp., 1998). Generalnie spośród komórek endometrium najwięcej receptorów OXT posiadają komórki nabłonka powierzchniowego (Boulton i wsp., 1995).

Innym czynnikiem regulującym sekrecję PGF2 α w okresie późnej fazy lutealnej i luteolizy u świni, a także u innych gatunków (Blitek i Ziecik, 2006b; Skarzynski i wsp., 2003)

jest TNF. Jest on cytokiną wydzielaną przez aktywowane makrofagi. Ponadto, jego obecność stwierdzono w łożysku, zarodku i układzie rozrodczym, m.in. w endometrium macicy u człowieka, małpy, gryzoni, bydła i świni (Hunt, 1993; Yu i wsp., 1998; Rosario i wsp., 2005). U świni, TNF stymuluje sekrecję $\text{PGF}2\alpha$ z komórek nabłonka powierzchniowego endometrium pochodzących z okresu luteolizy (Blitek i Ziecik, 2006). Interesujące jest to, że TNF ulega ekspresji w endometrium podczas wczesnej ciąży u świni i jego rola w tym okresie dotychczas nie była określona. Biorąc pod uwagę powyższe dane literaturowe, celem badań przedstawionych w publikacji Waclawik i wsp. (2010, I) było: **(1)** określenie wpływu OXT i TNF na ekspresję mRNA i białek enzymów szlaku syntezy $\text{PGE}2$ i $\text{PGF}2\alpha$: $\text{PTGS}2$, syntazy $\text{PGE}2$, syntazy PGF , oraz receptorów $\text{PGE}2$ ($\text{PTGER}2$ i $\text{PTGER}4$) w komórkach nabłonkowych błony śluzowej macicy uzyskanych od zwierząt będących w 11-12 dniu cyklu rujowego oraz 11-12 dniu ciąży; **(2)** zbadanie wpływu OXT i TNF na sekrecję $\text{PGE}2$ i $\text{PGF}2\alpha$ przez komórki nabłonkowe endometrium pochodzące od loszek w 11-12 dniu cyklu rujowego oraz 11-12 dniu ciąży.

Wykazano, że TNF zwiększył zawartość mRNA $\text{PTGS}2$, mRNA i białka syntazy $\text{PGE}2$ (mPGES-1) oraz sekrecję $\text{PGE}2$ przez komórki nabłonka powierzchniowego endometrium pochodzące od loszek w 11-12 dniu cyklu rujowego oraz 11-12 dniu ciąży (Waclawik i wsp., 2010; I). Natomiast OXT spowodowała wzrost ekspresji genu $\text{PTGS}2$, białka mPGES-1 oraz uwalnianie $\text{PGE}2$ w badanych komórkach pobranych tylko z 11-12 dnia ciąży. TNF i OXT nie miały wpływu na ekspresję genu i białka syntazy PGF oraz sekrecję $\text{PGF}2\alpha$, jak również na zawartość mRNA $\text{PTGER}2$ w komórkach nabłonka powierzchniowego w obu badanych okresach.

Uzyskane wyniki wskazały na ważną rolę OXT i TNF w stymulacji syntezy $\text{PGE}2$ w komórkach nabłonka powierzchniowego endometrium podczas wczesnej ciąży (Waclawik i wsp., 2010; I). Przytoczone wyżej badania sugerują, że OXT, która może pochodzić z endometrium, prawdopodobnie uczestniczy pośrednio w podtrzymaniu funkcji ciała żółtego podczas ciąży. Przypuszczenie to znajduje również potwierdzenie w dotychczasowych danych literaturowych, wykazujących, że OXT podawana do światła macicy podczas późnej fazy lutealnej nie wykazuje działania luteolitycznego. Natomiast, gdy hormon ten podawany jest systemowo wywołuje luteolizę (Sample i wsp., 2000). Podawanie domaciczne OXT ma antyluteolityczny efekt, zmniejsza się sekrecja $\text{PGF}2\alpha$, objawiając się obniżeniem PGFM w osoczu krwi i opóźniając wystąpienie spadku progesteronu (Sample i wsp., 2004). Podsumowując badania własne wyniki wskazują na dodatkową, nieopisaną wcześniej rolę OXT, jaką może wywierać podczas ciąży (Waclawik i wsp., 2010; I).

Biorąc pod uwagę wpływ OXT na sekrecję $\text{PGF}2\alpha$, wykazanie braku wrażliwości komórek nabłonka powierzchniowego na OXT jest zgodne z wcześniejszymi badaniami dotyczącymi tych komórek lub skrawków endometrium z 12 dnia cyklu lub ciąży (Ludwig i wsp., 1998; Uzumcu i wsp., 2000) lub wcześniejszego okresu cyklu rujowego (Kieborz i wsp., 1991; Carnahan i wsp., 1996). Przypuszcza się, że wrażliwość endometrium na OXT, w sensie odpowiedzi związanej z regulacją sekrecji $\text{PGF}2\alpha$, wykształca się pomiędzy 12 a 14 dniem od momentu wystąpienia objawów ru. Uzyskane wyniki są zgodne także z danymi literaturowymi wskazującymi na brak wpływu oksytocyny na uwalnianie prostaglandyny $\text{F}_{2\alpha}$ do krwi obwodowej w dniach 14-15 cyklu rujowego, gdy poziom progesteronu był wysoki oraz stymulację sekrecji $\text{PGF}_{2\alpha}$ po 15 dniu cyklu, gdy zawartość progesteronu obniżyła się podczas luteolizy (Franczak i wsp., 2005). W związku z tym można sugerować, że OXT nie

bierze udziału w inicjacji luteolizy, ale raczej zaangażowana jest w regulację wysokości i częstotliwości pulsów uwalniania PGF2 α podczas luteolizy u świni (Kotwica i wsp., 1999).

Prezentowane wyniki badań (Waclawik i wsp., 2010; I) wskazujące na pośredni luteotropowy wpływ TNF poprzez zwiększenie sekrecji PGE2 w komórkach endometrium podczas wczesnej ciąży znajdują potwierdzenie w danych literaturowych dotyczących bydła (Murakami i wsp., 2001; Skarzynski i wsp., 2003). Na podstawie badań *in vivo* u bydła sugeruje się, że TNF w małych koncentracjach odgrywa ważną rolę podczas luteolizy, natomiast podawanie wysokich dawek tego czynnika wydłuża długość cyklu rujowego i zwiększa produkcję P4 przez ciało żółte (Skarzynski i wsp., 2003). TNF działając lokalnie może także pełnić rolę w kształtowaniu środowiska w macicy podczas wczesnej ciąży. Sugeruje się, że podczas cyklu rujowego TNF reguluje wzrost i różnicowanie komórek macicy, natomiast podczas ciąży prawdopodobnie może brać udział w rozwoju zmian przypominających stan zapalny (Hunt i wsp., 1996; Rosario i wsp., 2005; Waclawik, 2011; III).

Badania te zostały opublikowane w oryginalnej publikacji eksperymentalnej I:

Waclawik A., Blitek A., Zieciak A.J. (2010) Oxytocin and tumor necrosis factor α stimulate expression of prostaglandin E2 synthase and secretion of prostaglandin E2 by luminal epithelial cells of the porcine endometrium during early pregnancy. *Reproduction* 140:613-622.

W kolejnej publikacji Waclawik, 2011 (III), na podstawie badań własnych (Waclawik i wsp., 2009; I) oraz badań innych autorów dokonałam porównań międzygatunkowych i wyciągnęłam wnioski, że pomimo faktu, że typy implantacji i łożysk oraz sygnały zarodkowe różnią się u świni, przeżuwaczy, gryzoni i człowieka, wspólnym mechanizmem zachodzącym podczas wczesnej ciąży wydaje się być zwiększenie ekspresji syntazy PGE2 - mPGES-1 w komórkach endometrium. Założyłam, więc że PGE2 jest mediatorem działania sygnałów zarodkowych w endometrium. Ważnym osiągnięciem wyżej wymienionej publikacji przeglądowej było m.in. pogłębieniem interpretacji wyników dotychczasowych badań własnych na tle danych literaturowych dotyczących wczesnej ciąży oraz dokonanie porównań międzygatunkowych dotyczących niniejszej tematyki badawczej. W pracy Waclawik (2011; III) zwróciłam uwagę na to, że PGE2 wraz z innymi czynnikami produkowanymi przez zarodek i endometrium bierze udział w współtworzeniu środowiska sprzyjającego implantacji zarodka. Porównując wyniki badań dotyczące wczesnej ciąży u różnych gatunków wyciągnęłam wnioski, że u świni, jak i u innych gatunków zwierząt oraz kobiety, implantacja zarodka związana jest ze zwiększeniem ekspresji czynników odgrywających istotną rolę podczas rozwoju procesu zapalnego: cytokin, czynników wzrostu oraz prostaglandyn. Zarodek produkując mediatory prozapalne: interferon γ , interleukiny IL-1 β , IL-6 oraz PGE2 prawdopodobnie aktywuje w endometrium szlaki związane m.in. z rozwojem niektórych zmian przypominających proces zapalny. Podobnie, jak w stanie zapalnym, podczas procesu implantacji zarodka, dochodzi do rozszerzenia naczyń krwionośnych i zwiększenia ich przepuszczalności, a w rezultacie do obrzęku endometrium. Endometrium odpowiada na sygnały zarodkowe wzmacniając stan receptywności, wywołany początkowo przez progesteron. Proces ten podlega precyzyjnej kontroli, gdyż zbyt silna ekspresja tych czynników może doprowadzać do zaburzeń i przerwania wczesnej ciąży.

Potencjalna uniwersalna rola syntezy PGE2 w macicy oraz zarodku u świni i innych gatunków zwierząt podsumowana została w publikacji przeglądowej **III**:

Waclawik A. (2011) Novel insights into the mechanisms of pregnancy establishment: regulation of prostaglandin synthesis and signaling in the pig. *Reproduction* 142:389-399.

*Publikacja ta znalazła się w latach 2011-2012 w gronie dziesięciu **najczęściej cytowanych publikacji** czasopisma *Reproduction* (IF=3,049) – pismo od Wydawcy w Załączniku do Autoreferatu.*

iii. Mechanizm oddziaływania prostaglandyny E2 na zarodek świni

Biorąc pod uwagę hipotezy postawione w pracy przeglądowej (Waclawik, 2011; **III**) oraz wyniki badań własnych wskazujące na zwiększoną syntezę PGE2 w endometrium i zarodku (Waclawik i Ziecik, 2007), a także sugerujące jej lokalny wpływ na komórki macicy (Waclawik i wsp., 2009; **II**), postanowiłam sprawdzić, czy PGE2 oddziałuje bezpośrednio na zarodek świni. W związku z tym, celem badań przedstawionych w publikacji Waclawik i wsp. (2013; **IV**) było: **(1)** określenie profilu ekspresji genu i białka receptorów PGE2 w zarodku/ trofoblaście podczas wczesnej ciąży i stwierdzenie czy ekspresja ta jest regulowana przez PGE2 oraz E2; **(2)** zbadanie wpływu PGE2 na syntezę sygnału zarodkowego (E2) w komórkach trofoblastu zarodka; **(3)** określenie wpływu PGE2 na adhezję komórek trofoblastu oraz wyjaśnienie jakie wewnątrzkomórkowe szlaki sygnalizacyjne są aktywowane przez PGE2 w zarodku; **(4)** określenie wpływu PGE2 na ekspresję genu czynnika wzrostu śródbłona naczyń krwionośnych w komórkach trofoblastu.

Badając mechanizm działania PGE2 na zarodek, w pierwszej kolejności zidentyfikowałam ekspresję genu i białka dwóch izoform receptora PGE2 - PTGER2 oraz PTGER4 w zarodku/trofoblaście świni w badanym okresie od 10 do 25 dnia ciąży. Uzyskane wyniki wykazały, że zawartość mRNA PTGER2, wzrosła 14-krotnie w trofoblaście/zarodku w dniach 14-19, czyli w okresie implantacji, w porównaniu do okresu przedimplantacyjnego. Podobnie, ekspresja białka PTGER2 była najwyższa w zarodku/trofoblaście w okresie implantacji. Wykazałam, że PGE2 stymulowała ekspresję mRNA receptora PTGER2 w komórkach trofoblastu. Równoczesne podanie antagonisty PTGER2 (AH6809) zniosło stymulujący efekt PGE2 na ekspresję genu PTGER2. Nie wykazano istotnie statystycznego wpływu estradiolu-17 β na ekspresję genu receptora PTGER2 w komórkach trofoblastu świni *in vitro*. Natomiast ekspresja mRNA i białka PTGER4, nie zmieniała się znacząco w zarodkach/ trofoblastach w dniach 10-19 ciąży i nie była regulowana przez estradiol-17 β ani PGE2.

Wcześniejsze badania własne sugerowały, że zmiany ekspresji syntazy PGE2 oraz syntezy PGE2 w zarodkach świni podczas wczesnej ciąży odpowiadają profilowi sekrecji estradiolu-17 β przez zarodki w tym czasie (Waclawik i Ziecik, 2007). Ponadto, w okresie tuż przed implantacją zarodka w endometrium świni istnieją dodatnie sprzężenia zwrotne pomiędzy sygnałem zarodkowym (estradiolem-17 β) a zwiększoną ekspresją syntazy PGE2, sekrecją PGE2 oraz ekspresją receptora PTGER2 (Waclawik i wsp., 2009; **II**). Wobec tego, w kolejnym doświadczeniu zbadalam czy PGE2 może w sposób auto- lub parakryny

regulować syntezę estradiolu-17 β w komórkach zarodka świni (Waclawik i wsp., 2013; **IV**). Wykazałam, że PGE2 stymulowała ekspresję genu kluczowego enzymu syntezy estradiolu-17 β , aromatazy w komórkach trofoblastu *in vitro*, jak również uwalnianie estradiolu-17 β przez te komórki. Profil ekspresji genu aromatazy w zarodkach podczas wczesnej ciąży charakteryzował się występowaniem dwóch okresów wzrostu. Pierwszy z nich stwierdzono w zarodkach z 10-12 dnia ciąży, natomiast drugi - w zarodkach/trofoblastach od 14 do 25 dnia ciąży. Zawartość mRNA aromatazy obniżyła się w zarodkach w 13 dniu ciąży (Waclawik i wsp., 2013; **IV**), czyli w okresie, w którym dochodzi do spadku sekrecji estradiolu-17 β przez zarodek (Geisert i wsp., 1990). Nie potwierdzono wpływu PGE2 na ekspresję genu VEGFA w komórkach trofoblastu świni *in vitro*.

Podczas procesu implantacji, na powierzchni trofoblastu oraz nabłonka endometrium świni dochodzi do wytworzenia trwałych połączeń między integrynami a cząsteczkami macierzy zewnątrzkomórkowej (ECM). Receptory integrynowe AVB1 ($\alpha v \beta 1$), AVB3, AVB5, AVB1 mają zdolność wiązania sekwencji aminokwasowej RGD (Arg-Gly-Asp), która jest obecna w takich białkach ECM, jak osteopontyna, fibronektyna i witronektyna. Cząsteczki macierzy zewnątrzkomórkowej są obecne w miejscach zetknięcia komórek trofoblastu z komórkami nabłonka powierzchniowego endometrium. Fibronektyna, zwana „klejem trofoblastycznym”, obecna jest w 15 dniu ciąży na zewnętrznej powierzchni komórek trofoblastu, w blaszce podstawnej nabłonka powierzchniowego i gruczołowego oraz w komórkach zrębu endometrium (Bowen i wsp., 1996). Fibronektyna wspomaga przyleganie komórek za pośrednictwem integryn. Biorąc pod uwagę wzrost ekspresji PTGER2 w zarodku/trofoblastie w okresie implantacji (Waclawik i wsp., 2013; **IV**), zbadano czy PGE2 uczestniczy w fundamentalnym procesie zachodzącym podczas implantacji zarodka, jakim jest adhezja komórek trofoblastu oraz wyjaśniono jakie wewnątrzkomórkowe szlaki sygnalizacyjne są aktywowane przez PGE2 w zarodku podczas implantacji. Najważniejszym odkryciem tych badań było wykazanie po raz pierwszy, że PGE2 stymuluje adhezję komórek trofoblastu świni. Do tej pory wpływ PGE2 na adhezję komórek zarodka nie został opisany u żadnego gatunku zwierząt. PGE2 zwiększyła zdolności do przylegania komórek trofoblastu do białka ECM poprzez PTGER2 i receptory integrynowe AVB3. Podanie równoczesne antagonisty PTGER2 zniósło stymulujący efekt PGE2 na adhezję. Butaprost, selektywny agonista receptora PTGER2, podobnie jak PGE2, zwiększył właściwości adhezyjne badanych komórek. Blokowanie receptorów integrynowych ITGAVB3 za pomocą tetrapeptydu RGDS lub przeciwciał skierowanych przeciwko ITGAVB3, zniósło stymulujący efekt PGE2 na adhezję komórek trofoblastu u świni.

Na podstawie uzyskanych wyników wskazujących na stymulujący wpływ PGE2 na syntezę estradiolu-17 β przez zarodek (Waclawik i wsp., 2013; **IV**), postanowiłam zbadać czy wpływ PGE2 na adhezję komórek trofoblastu jest bezpośredni, bądź czy działanie tej prostaglandyny jest regulowane przez ten sygnał zarodkowy. Stwierdzono, że sam estradiol-17 β nie miał wpływu na adhezję komórek trofoblastu. Wyniki wskazują, że PGE2 zwiększa adhezję zarodka przez mechanizm związany z aktywacją receptora estrogenowego, prawdopodobnie niezależną od liganda. Nie jest jednak wykluczone synergistyczne działanie PGE2 z estradiolem-17 β . Wykazano, że PGE2 zwiększyła adhezję komórek zarodka poprzez aktywację szlaku MEK1/MAPK oraz działając poprzez receptor PTGER2 indukowała fosforylację kinaz MAPK MAPK1/MAPK3 (ERK1/2). Ponadto, PGE2 zwiększyła ekspresję białek adhezyjnych - kinazy ogniskowo-adhezyjnej (FAK) i wewnątrzkomórkowej cząsteczki adhezyjnej (ICAM-1) w komórkach trofoblastu świni.

W związku z tym, że szlak MAPK może być funkcjonalnie powiązany z szlakiem mTOR (Kim i wsp., 2010), zbadano potencjalny udział tego szlaku sygnalizacyjnego w mechanizmie adhezji zarodka. Stwierdzono, że inhibitor szlaku mTOR (rapamycyna) nie wpłynął istotnie na adhezję indukowaną przez PGE2.

Uzyskane wyniki skłoniły mnie do postawienia pytania czy rola PGE2 w procesie adhezji zarodka jest specyficzna tylko dla gatunku świni. Efekt jaki wywiera PGE2 na komórki trofoblastu ludzkiego sprawdziłam wykorzystując linie komórkową HTR-8/Svneo. Badania te zapoczątkowałam przy współpracy z profesorem Henrym Jabbourem przebywając na stażu naukowym w Medical Research Council w Edynburgu, a następnie kontynuowałam w naszym Instytucie. Badania te pozwoliły wykazać, że PGE2 stymulowała adhezję komórek trofoblastu ludzkiego HTR-8/Svneo do wszystkich użytych w doświadczeniu białek ECM: fibronektyny, lamininy, kolagenu I i IV. Interesującym spostrzeżeniem było stwierdzenie, że podobnie, jak w komórkach trofoblastu świni, PGE2 wywołuje wzrost adhezji komórek trofoblastu ludzkiego poprzez PTGER2 i receptory integrynowe AVB3.

Podsumowując, uzyskane wyniki sugerują istotną rolę PGE2 w procesie implantacji zarodka u człowieka (łożysko inwazyjne) oraz u świni (łożysko nieinwazyjne). Podobieństwo wyników uzyskanych u obydwu gatunków sugeruje, że mechanizm działania PGE2 na komórki trofoblastu może być uniwersalny dla gatunków zwierząt posiadających odmienne typy łożyska. Przeprowadzone badania pozwoliły na opisanie mechanizmu auto- i parakrynnego oddziaływania prostaglandyny E2 na komórki zarodka świni. PGE2, której zawartość jest podwyższona w świetle macicy podczas okresu implantacji zarodka, stymuluje ekspresję receptora PGE2 – PTGER2 w zarodku oraz zwiększa adhezję komórek zarodka: (1) poprzez aktywację wewnątrzkomórkowych szlaków związanych z aktywacją receptora estrogenowego (2) i kinaz MEK/MAPK; oraz (3) przez stymulację ekspresji białek adhezyjnych FAK oraz ICAM-1. Ponadto, PGE2 zwiększa syntezę i sekrecję estradiolu-17 β w komórkach zarodka świni. Uzyskane wyniki świadczą, że PGE2 odgrywa istotną rolę w okresie macicznego rozpoznania ciąży oraz działanie PGE2 może poprzedzać wydzielanie pierwszorzędowego sygnału zarodkowego u świni, jakim jest estradiol-17 β .

Badania te zostały opublikowane w oryginalnej publikacji eksperymentalnej **IV**:

Waclawik A., Kaczynski P., Jabbour H.N. (2013) Autocrine and Paracrine Mechanisms of Prostaglandin E2 Action on Trophoblast/Conceptus Cells through the Prostaglandin E2 Receptor (PTGER2) during Implantation. *Endocrinology* 154:3864–3876.

Wyniki prezentowanych badań wzbogacają wiedzę na temat mechanizmów molekularnych i komórkowych interakcji pomiędzy zarodkiem oraz układem rozrodczym podczas macicznego rozpoznania ciąży i implantacji, a dłuższej perspektywie mogą przyczynić się do terapii ograniczających śmiertelność zarodków podczas wczesnej ciąży.

Podsumowanie i wnioski

Najważniejsze wnioski wynikające z opisanego w niniejszym autoreferacie cyklu publikacji stanowiących osiągnięcie naukowe, są następujące:

Okres maczynego rozpoznania ciąży

1. U świni, w procesie maczynego rozpoznania ciąży, zarodek wydzielając estradiol-17 β zwiększa syntezę prostaglandyn na korzyść PGE2 w endometrium poprzez stymulację ekspresji białka enzymów uczestniczących w syntezie PGE2 i podwyższeniu uwalniania PGE2, przy jednoczesnym obniżeniu ekspresji białka PGFS i CBR1 w endometrium.
2. Wykazano istnienie procesu autoamplifikacji PGE2 w błonie śluzowej macicy świni, dzięki któremu następuje zwiększenie syntezy PGE2 w dniach 11-12 ciąży, co może przyczynić się do przedłużenia funkcji ciała żółtego w tym okresie. W endometrium u świni, PGE2 reguluje własną syntezę i sekrecję na zasadzie dodatniego sprzężenia zwrotnego prawdopodobnie za pośrednictwem receptora PTGER2.
3. OXT i TNF, nie tylko regulują uwalnianie PGF2 α przez endometrium w okresie okołoluteolitycznym, jak wykazano we wcześniejszych badaniach u świni i innych gatunków zwierząt, ale także stymulują ekspresję białka syntazy PGE2 oraz sekrecję luteotropowej PGE2 przez komórki nabłonkowe endometrium podczas maczynego rozpoznania ciąży.
Udział zarodka w 11-12 dniu ciąży w ochronie ciała żółtego może również polegać na uwrażliwieniu komórek nabłonka powierzchniowego endometrium na działanie OXT, która wydzielana w tym okresie w dużych ilościach do światła macicy, zwiększa syntezę i sekrecję PGE2 przez te komórki.
4. Prostaglandyna E2, po dotarciu do jajników może wykazywać działanie luteotropowe, za pośrednictwem receptorów PTGER2 i PTGER4, których ekspresja jest podwyższona w ciałku żółtym w 14 dniu ciąży.
5. PGE2 przez stymulację ekspresji aromatazy w komórkach trofoblastu świni zwiększa sekrecję estradiolu-17 β przez zarodek. Uzyskane wyniki sugerują więc, że PGE2 odgrywa istotną rolę w okresie maczynego rozpoznania ciąży oraz działanie PGE2 może poprzedzać wydzielanie pierwszorzędowego sygnału zarodkowego (estradiolu-17 β).

Okres implantacji zarodka

6. PGE2 może być mediatorem działania w endometrium sygnału zarodkowego specyficznego dla różnych gatunków. Hormon ten drogą auto-/parakrynną za pośrednictwem receptorów PTGER2 i PTGER4 lokalnie reguluje procesy zaangażowane w przygotowanie macicy do zagnieżdżenia zarodka.
7. PGE2 odgrywa również istotną rolę w procesie implantacji zarodka u człowieka (łożysko inwazyjne) oraz u świni (łożysko nieinwazyjne), zwiększając adhezję komórek trofoblastu do ECM przy udziale PTGER2 i receptorów integrynowych AVB3. Uzyskane wyniki sugerują więc, że mechanizm ten może być uniwersalny dla gatunków zwierząt posiadających odmienne typy łożyska.
8. Uzyskane wyniki sugerują, że PGE2 zwiększa adhezję zarodka do endometrium przez mechanizm związany z aktywacją receptora estrogenowego i szlaku MEK1/MAPK, a także poprzez podwyższenie ekspresji białek adhezyjnych FAK i ICAM-1 w komórkach trofoblastu świni.

Piśmiennictwo

1. Achache H., Tsafirir A., Prus D., Reich R., Revel A. (2010) Defective endometrial prostaglandin synthesis identified in patients with repeated implantation failure undergoing in vitro fertilization. *Fertility Sterility* 94:1271-1278.
2. Bazer F.W., Thatcher W.W. (1977) Theory of maternal recognition of pregnancy in swine based on estrogen controlled endocrine versus exocrine secretion of prostaglandin F2alpha by the uterine endometrium. *Prostaglandins* 14:397-400.
3. Blitek A., Ziecik A.J. (2005) Effect of LH on prostaglandin F2alpha and prostaglandin E2 secretion by cultured porcine endometrial cells. *Reproduction* 130:105-112.
4. Blitek A., Waclawik A., Kaczmarek M.M., Stadejek T., Pejsak Z., Ziecik A.J. (2006a) Expression of cyclooxygenase-1 and -2 in the porcine endometrium during the oestrous cycle and early pregnancy. *Reproduction of Domestic Animals* 41(3):251-257.
5. Blitek A., Ziecik A.J. (2006b) Role of tumour necrosis factor alpha in stimulation of prostaglandins F(2alpha) and E(2) release by cultured porcine endometrial cells. *Reproduction in Domestic Animals* 41:562-567.
6. Bolet G. (1986) Timing and Extent of Embryonic Mortality in Pigs Sheep and Goats: Genetic Variability. In: *Embryonic Mortality in Farm Animals. Current Topics in Veterinary Medicine and Animal Science Volume 34*, Eds. J.M. Sreenan and M.G. Diskin, Kluwer Academic Publishers Group, 12-43.
7. Boiti C., Zerani M., Zampini D., Gobbetti A. (2000) Nitric oxide synthase activity and progesterone release by isolated corpora lutea of rabbits in the early and mid-luteal phases of pseudopregnancy are modulated differently by prostaglandin E-2 and prostaglandin F-2alpha via adenylate cyclase and phospholipase C. *Journal of Endocrinology* 164:179-186.
8. Boulton M.I., McGrath T.J., Brown D.A., Broad K.D., Gilbert C.L. (1995) Oxytocin receptor mRNA expression in the porcine uterus. *Journal of Reproduction Fertility Abstract Series* 15:36-37 (abstract 102).
9. Boulton M.I., McGrath T.J., Goode J.A., Broad K.D., Gilbert C.L. (1996) Changes in content of mRNA encoding oxytocin in the pig uterus during the oestrous cycle, pregnancy, at parturition and in lactational anoestrus. *Journal of Reproduction Fertility* 108:219-227.
10. Bowen J.A., Bazer F.W., Burghardt R.C. (1996) Spatial and temporal analyses of integrin and Muc-1 expression in porcine uterine epithelium and trophoctoderm in vivo. *Biology of Reproduction* 55(5):1098-106.
11. Carnahan K.G., Prince B.C., Miranda M.A. (1996) Exogenous oxytocin stimulates uterine secretion of prostaglandin F2 alpha in cyclic and early pregnant swine. *Biology of Reproduction* 55:838-843.
12. Christenson L.K., Farley D.B., Anderson L.H., Ford S.P. (1994) Luteal maintenance during early pregnancy in the pig: role for prostaglandin E2. *Prostaglandins* 47:61-75.
13. Christenson L.K., Ford S.P. (1995) Comparison of prostaglandin F2 alpha-induced luteolysis in early pregnant and estrogen-treated 'pseudopregnant' gilts. *Animal Reproduction Science* 38:239-249.
14. Edgerton L.A., Kaminski M.A., Silvia W.J. (1996) Changes in uterine secretion of prostaglandin F2 alpha in response to oxytocin during the estrous cycle, early pregnancy, and estrogen-induced pseudopregnancy in swine. *Biology of Reproduction*:55 657-662.
15. Erdem H., Guzeloglu A. (2010) Effect of meloxicam treatment during early pregnancy in Holstein heifers. *Reproduction in Domestic Animals* 45:625-628.
16. Franczak A., Ciereszko R., Kotwica G. (2005) Oxytocin (OT) action in uterine tissues of cyclic and early pregnant gilts: OT receptors concentration, prostaglandin F(2)alpha secretion, and phosphoinositide hydrolysis. *Animal Reproduction Science* 88:325-339.
17. Geisert R.D., Renegar R.H., Thatcher W.W., Roberts R.M., Bazer F.W. (1982) Establishment of Pregnancy in the Pig: I Interrelationships between preimplantation development of the pig blastocyst and uterine endometrial secretions. *Biology of Reproduction* 27:925-939.
18. Geisert R.D., Zavy M.T., Moffatt R.J., Blair R.M. & Yellin T. (1990) Embryonic steroids and the establishment of pregnancy in pigs. *Journal of Reproduction and Fertility Supplement* 40:293-305.
19. Hahlin M., Dennefors B., Johanson C., Hamberge L. (1988) Luteotropic effects of prostaglandin E2 on the human corpus luteum of the menstrual cycle and early pregnancy. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 66:909-914.
20. Hunt J.S. (1993) Expression and regulation of the tumour necrosis factor-alpha gene in the female reproductive tract. *Reproduction, Fertility and Development* 5:141-153.

21. Hunt J.S., Chen H.L., Miller L. (1996) Tumor necrosis factors: pivotal components of pregnancy? *Biology of Reproduction* 54:554-562.
22. Hunter R.H. & Poyser N.L. (1982) Uterine secretion of prostaglandin F₂ alpha in anaesthetized pigs during the oestrous cycle and early pregnancy. *Reproduction, nutrition, development* 22:1013-1023.
23. Jabbour H.N., Sales K.J., Smith O.P., Battersby S., Boddy S.C. (2006) Prostaglandin receptors are mediators of vascular function in endometrial pathologies. *Molecular and Cellular Endocrinology* 252(1-2):191-200.
24. Kennedy T.G., Gillio-Meina C., Phang S.H. (2007) Prostaglandins and the initiation of blastocyst implantation and decidualization. *Reproduction* 134:635-643.
25. Kieborz K.R., Silvia W.J., Edgerton L.A. (1991) Changes in uterine secretion of prostaglandin F₂ alpha and luteal secretion of progesterone in response to oxytocin during the porcine estrous cycle. *Biology of Reproduction* 45:950-954.
26. Kim J., Erikson D.W., Burghardt R.C., Spencer T.E., Wu G., Bayless R.J., Johnson G.A., Bazer F.W. (2010) Secreted phosphoprotein 1 binds integrins to initiate multiple cell signaling pathways, including FRAP1/mTOR, to support attachment and force-generated migration of trophectoderm cells. *Matrix Biology* 5:369-82.
27. Kotwica G., Dusza L., Ciereszko R., Okrasa S., Schams D. (1990) Oxytocin plasma levels during spontaneous and cloprostenol-induced luteolysis in sows. *Animal Reproduction Science* 22:109-119.
28. Kotwica G., Franczak A., Okrasa S., Kotwica J. (1999) Effect of an oxytocin antagonist on prostaglandin F₂ alpha secretion and the course of luteolysis in sows. *Acta Veterinaria Hungarica* 4:249-262.
29. Kowalczyk A.E., Kaczmarek M.M., Schams D., Ziecik A.J. (2008) Effect of prostaglandin E₂ and tumor necrosis factor α on the VEGF-receptor system expression in cultured porcine luteal cells. *Molecular reproduction and development* 75:1558-1566.
30. Kraeling R.R., Rampacek G.B., Fiorello N.A. (1985) Inhibition of pregnancy with indomethacin in mature gilts and prepuberal gilts induced to ovulate. *Biology of Reproduction* 32:105-110.
31. Krzymowski T., Kotwica J., Stefanczyk-Krzybowska S. (1990) Uterine and ovarian countercurrent pathways in the control of ovarian function in the pig. *Journal of reproduction and fertility* 40:179-191.
32. Ludwig T.E., Sun B.C., Carnahan K.G., Uzumcu M., Yelich J.V., Geisert R.D., Miranda M.A. (1998) Endometrial responsiveness to oxytocin during diestrus and early pregnancy in pigs is not controlled solely by changes in oxytocin receptor population density. *Biology of Reproduction* 58:769-777.
33. McCracken J.A., Custer E.E., Lamsa J.C. (1999) Luteolysis: a neuroendocrine-mediated event. *Physiological Reviews* 79:263-323.
34. Moeliono M.P., Thatcher W.W., Bazer F.W., Frank M., Owens L.J., Wilcox C.J. (1977) A study of prostaglandin F₂alpha as the luteolysin in swine: II Characterization and comparison of prostaglandin F, estrogens and progestin concentrations in utero-ovarian vein plasma of nonpregnant and pregnant gilts. *Prostaglandins* 14:543-555.
35. Murakami S., Miyamoto Y., Skarzynski D.J., Okuda K. (2001) Effects of tumor necrosis factor-alpha on secretion of prostaglandins E₂ and F₂alpha in bovine endometrium throughout the estrous cycle. *Theriogenology* 55:1667-1678.
36. Okano A., Okuda K., Takahashi M., Schams D. (1996) Oxytocin receptors in the porcine endometrium during the estrous cycle and pregnancy. *Animal Reproduction Science* 41:61-70.
37. Richards R.G., Gadsby J.E., Almond G.W. (1994) Differential effects of LH and PGE₂ on progesterone secretion by small and large porcine luteal cells. *Journal of Reproduction and Fertility* 102:27-34.
38. Perry J.S., Heap R.B., Amoroso E.C. (1973) Steroid hormone production by pig blastocysts. *Nature* 245:45-47.
39. Rosario G.X., Sachdeva G., Manjramkar D.D., Puri C.P. (2005) Enhanced expressions of endometrial tumor necrosis factor alpha and its receptors during early pregnancy in bonnet monkeys. *Cytokine* 31:459-464.
40. Sample G.L., Kubotsu S.L., Carnahan K.G., Miranda M.A. (2000) Interestrous interval of cyclic gilts is decreased by systemic but not intrauterine administration of exogenous oxytocin. *Journal of Animal Science* 78:2393-2398.
41. Sample G.L., Blackwell D.M., Kubotsu S.L., Miranda M.A. (2004) Endocrine secretion of prostaglandin F₂alpha in cyclic gilts is decreased by intrauterine administration of exogenous oxytocin. *Animal Reproduction Science* 84:395-406.

42. Skarzynski D.J., Bah M.M., Deptula K.M., Woclawek-Potocka I., Korzekwa A., Shibaya M., Pilawski W., Okuda K. (2003) Roles of tumor necrosis factor-alpha of the estrous cycle in cattle: an in vivo study. *Biology of Reproduction* 69:1907-1913.
43. Stefańczyk-Krzymowska S., Grzegorzewski W., Skipor J., Krzymowski T. (1992) Effect of unilateral ovariectomy on counter-current transfer of prostaglandin F2a in the area of mesometrium vasculature in the pig. *Bulletin Of The Polish Academy Of Sciences, Biological Science* 40:29-35.
44. Stefańczyk-Krzymowska S., Krzymowski T., Einer-Jensen N., Kamiński T., Kotwica J. (1990) Local transfer of prostaglandin F2a from the uterine lumen into the venous and arterial blood and into uterine, mesometrial and ovarian tissue on Day 18 of pregnancy in the pig. *Animal Reproduction Science* 23:223-235.
45. Tysseling K.A., Uzumcu M., Hoagland T.A., Crain R.C., Mirando M.A. (1996) The role of phosphoinositide-derived second messengers in oxytocin-stimulated prostaglandin F2 alpha release from endometrium of pigs. *Domestic Animal Endocrinology* 13:411-420.
46. Uzumcu M., Braileanu G.T., Carnahan K.G., Ludwig T.E., Mirando M.A. (1998) Oxytocin-stimulated phosphoinositide hydrolysis and prostaglandin F secretion by luminal epithelial, glandular epithelial, and stromal cells from pig endometrium. I. Response of cyclic pigs on day 16 postestrus. *Biology of Reproduction* 59:1259-1265.
47. Uzumcu M., Carnahan K.G., Braileanu G.T., Mirando M.A. (2000) Oxytocin-stimulated phosphoinositide hydrolysis and prostaglandin F2alpha secretion by luminal epithelial, glandular epithelial and stromal cells from pig endometrium. II. Responses of cyclic, pregnant and pseudopregnant pigs on days 12 and 16 post oestrus. *Reproduction, Fertility and Development* 12:157-164.
48. Vallet J.L., Christenson R.K., Trout W.E., Klemcke H.G. (1998) Conceptus, progesterone, and breed effects on uterine protein secretion in swine. *Journal of Animal Science* 76:2657-2670.
49. Waclawik A. (2006) Klonowanie oraz charakterystyka ekspresji enzymów syntezy prostaglandyn w zarodku, endometrium i ciałku żółtym świnii. Praca doktorska obroniona na Wydziale Biologii (obecnie: Biologii i Biotechnologii) Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego w Olsztynie.
50. Waclawik A., Blitek A., Ziecik A.J. (2010) Oxytocin and tumor necrosis factor α stimulate expression of prostaglandin E2 synthase and secretion of prostaglandin E2 by luminal epithelial cells of the porcine endometrium during early pregnancy. *Reproduction* 140:613-622.
51. Waclawik A., Jabbour H.N., Blitek A., Ziecik A.J. (2009) Estradiol-17 β , prostaglandin E2 (PGE2) and the prostaglandin E2 receptor are involved in PGE2 positive feedback loop in the porcine endometrium. *Endocrinology* 150:3823-3832.
52. Waclawik A., Kaczynski P., Jabbour H.N. (2013) Autocrine and Paracrine Mechanisms of Prostaglandin E2 Action on Trophoblast/Conceptus Cells through the Prostaglandin E2 Receptor (PTGER2) during Implantation. *Endocrinology* 154:3864-3876.
53. Waclawik A., Rivero-Muller A., Blitek A., Kaczmarek M.M., Brokken L.J., Watanabe K., Rahman N.A., Ziecik A.J. (2006) Molecular cloning and spatiotemporal expression of prostaglandin F synthase and microsomal prostaglandin E synthase-1 in porcine endometrium. *Endocrinology* 147:210-221.
54. Waclawik A., Ziecik A.J. (2007) Differential expression of prostaglandin (PG) synthesis enzymes in conceptus during peri-implantation period and endometrial expression of carbonyl reductase/PG 9-ketoreductase in the pig. *Journal of Endocrinology* 194:499-510.
55. Weems C.W., Weems Y.S., Randel R.D. (2006) Prostaglandins and reproduction in female farm animals. *Veterinary Journal* 171:206-228.
56. Whiteaker S.S., Mirando M.A., Becker W.C., Hostetler C.E. (1994) Detection of functional oxytocin receptors on endometrium of pigs. *Biology of Reproduction* 51:92-98.
57. Yu Z., Gordon J.R., Kendall J., Thacker P.A. (1998) Elevation in tumour necrosis factor-alpha (TNF-alpha) messenger RNA levels in the uterus of pregnant gilts after oestrogen treatment. *Animal Reproduction Science* 50:57-67.

5. Omówienie pozostałych osiągnięć naukowo - badawczych

Przed uzyskaniem stopnia doktora

W 1999 r. w ramach pracy magisterskiej rozpoczęłam badania dotyczące polimorfizmu rodziny genów PAG (Pregnancy-Associated Glycoprotein) w genomach ssaków łżyskowych pod kierunkiem prof. dr hab. Bożeny Szafrąskiej w Katedrze Fizjologii Zwierząt Wydziału Biologii Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego (UWM) w Olsztynie. Podczas studiów uczestniczyłam także w pracach w Zarządzie Koła Naukowego Biotechnologów UWM w Olsztynie, biorąc aktywny udział w jego założeniu i rozwoju. W 2000 r. reprezentowałam Naukowe Koło Biotechnologów na XXXVI Zjeździe Towarzystwa Biochemicznego w Poznaniu, gdzie moja prezentacja uzyskanych wyników pt: „Polimorfizm rodziny genów PAG” uzyskała wyróżnienie w konkursie im. Janiny Opieńskiej-Blauth. Za pracę naukową zdobyłam Nagrodę Rektora UWM. Ukończyłam studia w grupie 5% najlepszych absolwentów UWM ze średnią 4,81. W czerwcu 2001 r. obroniłam pracę magisterską z wyróżnieniem i uzyskałam tytuł magistra inżyniera biotechnologii. Wyniki pracy zostały opublikowane w czasopiśmie z Listy Filadelfijskiej (wskazana w punkcie II.A.23 Załącznika IV „Wykaz opublikowanych prac naukowych oraz informacja o osiągnięciach dydaktycznych, współpracy naukowej i popularyzacji nauki”), a także w dwóch komunikatach naukowych (III.B.59; III.B.60).

Od grudnia 2001 r. byłam uczestnikiem Studium Doktoranckiego Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego w Olsztynie. Ponadto, od 2002 r. zostałam zatrudniona na stanowisku technologa, a od 2003 r. asystenta w Zakładzie Mechanizmów Działania Hormonów Instytutu Rozrodu Zwierząt i Badań Żywności Polskiej Akademii Nauk w Olsztynie. Pracę doktorską wykonywałam pod kierunkiem prof. dr hab. Adama Zięcika w Instytucie Rozrodu Zwierząt i Badań Żywności PAN. Badania te prowadziłam w ramach projektu finansowanego przez KBN pt: „Rola syntaz prostaglandyn F2 α i E2 w regulacji procesu luteolizy i wczesnej ciąży u świni”, w którym byłam głównym wykonawcą. Do najważniejszych osiągnięć mojej rozprawy doktorskiej należy:

- Zsekwencjonowanie oraz charakterystyka cDNA genów syntaz PGF2 α i PGE2;
- Odkrycie występowania specyficznych profili enzymów syntezy prostaglandyn w zarodku i macicy w okresie okołoinplantacyjnym, w wyniku czego faworyzowana jest synteza luteotropowej PGE2 w tym krytycznym okresie ciąży;
- Określenie lokalizacji ekspresji białka enzymów syntezy prostaglandyn w endometrium i ciałku żółtym świni;
- Wykazanie możliwości lokalnej syntezy prostaglandyn w ciałku żółtym świni podczas cyklu rujowego i wczesnej ciąży.

Znaczna część wyników pracy doktorskiej została opublikowana w jednym z najbardziej prestiżowych czasopism z zakresu endokrynologii **Endocrinology** (IF=5,2). Pozostałe rezultaty badań rozprawy doktorskiej opublikowałam już po uzyskaniu stopnia

doktora w uznanych czasopismach *Journal of Endocrinology* (IF=2.6) oraz *Theriogenology* (IF=2,0). Są to oryginalne publikacje eksperymentalne przedstawione w Załączniku IV „Wykaz opublikowanych prac naukowych oraz informacja o osiągnięciach dydaktycznych, współpracy naukowej i popularyzacji nauki” w punktach: II.A.7; II.A.13 i II.A.19. Ponadto, uzyskane wyniki prezentowałam na konferencjach międzynarodowych i krajowych (III.B.41-45; III.B.48; III.B.50; III.B.54). Na konferencji Society for Reproduction & Fertility (SRF) w 2004 r. w Belgii wygłoszony przeze mnie referat pt: „Novel functional characterization of expression of prostaglandin F synthase (PGFS) and microsomal prostaglandin E synthase in porcine estrous cycle endometrium and in early pregnancy”, został zakwalifikowany do grupy finałowej trzech najlepszych prac w sesji „**Ph.D. Student Prize**”. W 2005 r. na konferencji SRF w Wielkiej Brytanii wygłosiłam referat pt: „Expression patterns of mPGES-1 and PGFS in pig trophoblast” również w konkursowej sesji „SRF PhD Student Prize”. Zdobyłam w tym konkursie pierwsze miejsce, spośród 23 uczestników z całej Europy.

Dnia 22 czerwca 2006 r. odbyła się obrona mojej rozprawy doktorskiej pt: „Klonowanie oraz charakterystyka ekspresji enzymów syntezy prostaglandyn w zarodku, endometrium i ciałku żółtym świni”. Uchwałą Rady Naukowej Wydziału Biologii Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego otrzymałam stopień doktora nauk biologicznych, a moja praca doktorska została wyróżniona na wniosek w/w Rady Wydziału oraz nagrodzona Nagrodą Indywidualną III stopnia Dyrektora IRZBŻ PAN w Olsztynie.

Zaangażowana byłam także w realizację projektu finansowanego przez KBN pt: „Zastosowanie koniugatu hormon luteinizujący - peptyd lityczny do doświadczalnego leczenia nowotworów” (nr 5 P06K 009 17, lata 1999-2002), którego realizacją kierował prof. dr hab. Adam Zięcik. Ważnym osiągnięciem było wykazanie możliwości ukierunkowanego niszczenia nowotworów gonad i innych tkanek, posiadających receptor hormonu luteinizującego (LH) z zastosowaniem koniugatu LH-peptyd lityczny Hecate. Do badań wykorzystano model *in vivo*, który stanowiły samice szczura z guzami gruczołu mlekowego indukowanymi dwoma kancerogenami: dietylostilbestrolem i dimetylobenzenoantracenenem. Iniekcje koniugatu Hecate-CGbeta i samego peptydu litycznego Hecate istotnie obniżyło tempo wzrostu nowotworów, przy czym działanie koniugatu było efektywniejsze i długofalowe. Przełomowym odkryciem tych badań było stwierdzenie niskiej ekspresji zarówno genu, jak i białka receptorów LH/hCG w badanych guzach, co wskazywało na dodatkowe bezpośrednie lub/i pośrednie mechanizmy działania badanego preparatu antynowotworowego, raczej niezwiązane z obecnością receptorów LH/hCG (II.A.21; III.B.49; III.B.53; III.B.55; III.B.58). Uczestniczyłam także w badaniach *in vitro*, których celem było wyjaśnienie mechanizmu działania koniugatu Hecate-CGβ w komórkach nowotworu prostaty (II.A.20). Ponadto, wyniki badań dotyczących ukierunkowanego niszczenia nowotworów przedstawione zostały w dwóch pracach przeglądowych, których jestem współautorem (II.A.16; II.A.21).

Uczestniczyłam również w badaniach Zakładu nad wyjaśnieniem roli czynnika wzrostu śródbłonna naczyń (VEGFA) i jego receptorów w endokrynnej regulacji cyklu rujowego i współzależności między jajnikiem, macicą a zarodkiem w okresie implantacji zarodka u świni. Celem kolejnych badań, w które byłam zaangażowana było określenie udziału hormonu luteinizującego w regulację syntezy prostaglandyn F2α i E2 oraz ekspresję 9-ketoreduktazy PGE2 w błonie śluzowej macicy świni. Wstępne wyniki uzyskane w ramach wspomnianych projektów zostały opublikowane jako komunikaty naukowe i prezentowane były na konferencjach międzynarodowych i krajowych (III.B.46; III.B.47; III.B.51; III.B.52;

III.B.56; III.B.57). Badania te kontynuowałam po obronie pracy doktorskiej i większość publikacji z przedstawionego zakresu ukazała się po 2006 r.

Po uzyskaniu stopnia doktora

Z dniem 1 lipca 2006, awansowałam na stanowisko adiunkta w Zakładzie Mechanizmów Działania Hormonów. Częściowo kontynuując tematykę rozpoczętą w pracy doktorskiej, rozwinęłam oraz wzbogaciłam ją o szereg nowych tematów badawczych. Moje zainteresowania obejmowały i obecnie koncentrują się na wyjaśnieniu mechanizmów regulujących komunikację pomiędzy zarodkiem a układem rozrodczym we wczesnym okresie ciąży na poziomie komórkowym, receptorowym i molekularnym, głównie na modelu świni. W badaniach wykorzystuję także ludzkie linie komórkowe. Główne kierunki badawcze realizowałam w ramach czterech projektów, którymi kierowałam lub obecnie kieruję oraz jestem autorem ich koncepcji. Są to następujące projekty:

- Projekt autorski MNISW nr N N311 319135; „Rola sygnałów zarodkowych w aktywacji enzymów metabolizmu prostaglandyn i receptorów prostaglandyn w błonie śluzowej macicy”. 2008-2011.
- Projekt międzynarodowy niewspółfinansowany MNISW w ramach Akcji COST FA0702 nr DWM/N106/COST/2008; „Markery receptywności macicy w okresie okołoinplantacyjnym u świni”. 2008-2012.
- Projekt Luventus MNISW nr 0583/IP1/2011/71 „Mechanizm parakrynnego i autokrynnego oddziaływania prostaglandyny E2 na zarodek i błonę śluzową macicy podczas wczesnej ciąży”, 2012-2014.
- Projekt Sonata bis NCN nr 2012/05/E/NZ9/03493 pt. „Mechanizm parakrynnego i autokrynnego działania prostaglandyny F2 α na zarodek i błonę śluzową macicy podczas wczesnej ciąży u świni”, 2013-2018.

Do głównych kierunków prowadzonych badań, których wyniki zostały opublikowane po uzyskaniu stopnia doktora, należą:

- 5.1. Wyjaśnienie roli enzymów metabolizmu prostaglandyn i receptorów prostaglandyn w procesie maczynego rozpoznania ciąży i podczas implantacji zarodka;
- 5.2. Określenie i wyselekcjonowanie markerów biologicznych charakterystycznych dla stanu receptywności macicy, czyli stanu umożliwiającego prawidłową implantację zarodka;
- 5.3. Porównanie ekspresji wybranych czynników w ciałku żółtym podczas wczesnej ciąży i cyklu rujowego;
- 5.4. Zbadanie wpływu synchronizacji cyklu rujowego na funkcje endometrium i jajowodu u loszek;
- 5.5. Próba opracowanie metody ograniczającej śmiertelność zarodków świni.

Najważniejsze osiągnięcia w zakresie prowadzonych badań opublikowane po uzyskaniu stopnia doktora:

5.1. Wyjaśnienie roli enzymów metabolizmu prostaglandyn i receptorów prostaglandyn w procesie macicznego rozpoznania ciąży i podczas implantacji zarodka:

5.1.1. Dowiedzenie po raz pierwszy, że PGF₂α może odgrywać istotną rolę w oddziaływaniach pomiędzy zarodkiem i endometrium świni podczas wczesnej ciąży, szczególnie w okresie implantacji zarodka. Są to badania pionierskie na skalę światową. Dotychczas, w układzie rozrodczym człowieka i większości zwierząt, PGF₂α uważana była za główny czynnik luteolityczny. Badania własne (Waclawik i wsp. 2006; Waclawik i Ziecik, 2007) wskazują na podwyższoną ekspresję syntazy PGF w endometrium i zarodku świni w okresie implantacji. W literaturze brakuje doniesień na temat roli PGF₂α wydzielanej do światła macicy, jak również brak jest danych dotyczących udziału receptora PGF₂α (PTGFR) we wczesnej ciąży u świni oraz innych zwierząt. Pojawia się więc pytanie jaka jest rola wydzielanej do światła macicy PGF₂α podczas implantacji zarodka. W oparciu o dane dostępne w literaturze naukowej oraz badania własne, postawiliśmy hipotezę, że PGF₂α działając auto- i parakrynnie poprzez swoje receptory zlokalizowane w zarodku oraz endometrium uczestniczy w procesach związanych z implantacją zarodka u świni. Uzyskane wyniki wykazały wyższą ekspresję białka receptora PGF₂α w endometrium świni w 15 dniu ciąży w porównaniu z 15 dniem cyklu rujowego. Obecność zarodka i/lub jego produktów zwiększyła ekspresję genu receptora PTGFR w komórkach nabłonka endometrium świni *in vitro* oraz w endometrium *in vivo* u świni. Badania te realizowane są w ramach projektu NCN SONATA BIS (nr 2012/05/E/NZ9/03493), przyznanego mi na **tworzenie zespołu badawczego**. Projekt ten oceniony został w konkursie Sonata bis na pierwszym miejscu w rankingu wśród projektów zaakceptowanych do finansowania. Badania te realizuje pod moim kierunkiem mgr Piotr Kaczyński w ramach pracy doktorskiej, w której pełnię rolę promotora pomocniczego.

(Publikacje wg „Wykaz opublikowanych prac naukowych oraz informacja o osiągnięciach dydaktycznych, współpracy naukowej i popularyzacji nauki”: II.A.3; III.B.2; III.B.4; III.B.6; III.B.8; III.B.17; III.B.18).

5.1.2. Funkcjonalna charakterystyka wyciszania zsekwencjonowanych przez mnie genów PGFS i mPGES-1. Badania te zapoczątkowałam przebywając na stażu w 2006 r. na Uniwersytecie w Turku w Finlandii, a kontynuuję obecnie w Instytucie. Celem tych badań jest stworzenie modelu do badań mechanizmów związanych z syntezą prostaglandyn w endometrium poprzez wyciszenie genów enzymów syntezy prostaglandyn z wykorzystaniem technologii siRNA *in vitro* (III.B.25; III.B.26; III.B.32). Wstępne wyniki zaprezentowałam na V Jubileuszowym Zjeździe Towarzystwa Biologii Rozrodu, gdzie uzyskałam wyróżnienie za **najlepszy plakat** (III.B.34). Obecnie jedna z publikacji jest w druku w czasopiśmie z Listy Filadelfijskiej.

- 5.1.3. Określenie profili ekspresji genu i białka enzymów syntezy prostaglandyn COX-1 i COX-2 (PTGS1 i PTGS2) w endometrium w różnych dniach cyklu rujowego i we wczesnej ciąży. Wyniki badań wskazują, że enzym COX-2 odpowiada za wzrost syntezy prostaglandyn w późnej fazie lutealnej oraz podczas okresu implantacji u świni. (II.A.18).
- 5.1.4. Zbadanie wpływu steroidów jajnikowych (estradiolu-17 β i progesteronu) na podstawową i stymulowaną przez LH sekrecję PGF2 α i PGE2 przez komórki zrębu endometrium oraz ekspresję białka enzymu syntezy prostaglandyn (COX-2). Uzyskane wyniki sugerują, że steroidy jajnikowe mogą zwiększać wrażliwość endometrium na działanie LH. Hormon luteinizujący stymulował uwalnianie PGF2 α z komórek, które nie poddano działaniu steroidów oraz preinkubowanych z E2 (II.A.14; II.A.17).
- 5.1.5. Wykazanie, że steroidy regulują ekspresję genu i białka HoxA10 w endometrium świni w fazie lutealnej. Stwierdzono również występowanie podobnych profili HoxA10 i enzymu syntezy prostaglandyn COX-2 (PTGS2) w endometrium pod wpływem działania estradiolu-17 β i progesteronu. Badania te potwierdzają, że ekspresja enzymu COX-2 jest prawdopodobnie zależna od aktywności HoxA10. Dowiedziono również, że steroidy regulują ekspresję COX-2 w endometrium oraz wydzielanie PGE2. Estradiol-17 β zwiększył, a progesteron zmniejszył sekrecję tej prostaglandyny przez endometrium *in vitro*. (II.A.5; II.D.1; III.B.27; III.B.28).
- 5.1.6. Określenie wpływu PGE2 na globalny profil ekspresji genów w endometrium świni *in vivo*. Obecnie kontynuuje badania prezentowane w osiągnięciu naukowym będącym, podstawą wniosku o wszczęcie postępowania habilitacyjnego, wykorzystując model *in vivo*. Badania te realizują przy współpracy z dr hab. S. Bauresachsem z Politechniki Federalnej w Zurichu oraz dr. H. Blumem z Ludwig Maximilians University i Gene Center w Monachium. Model *in vivo* został przygotowany we współpracy z dr n. wet. J. Muszak z Zakładu Lokalnych Regulacji Hormonalnych i dr W. Grzegorzewskim (UWM) (III.B.11).
Uzyskane wyniki sugerują, że PGE2 działając synergistycznie z estradiolem-17 β może potęgować swój efekt zwiększając zakres zmian w globalnym profilu ekspresji genów podczas implantacji zarodka. Weryfikacja tej hipotezy będzie przedmiotem badań w planowanym kolejnym projekcie.
- 5.1.7. Określenie profilu ekspresji genu oraz białka dehydrogenazy 15-hydroksyprostaglandynowej (15-PGDH lub HPGD) w endometrium i zarodkach świni. Enzym ten przekształca prostaglandynę E2 i prostaglandynę F2 α do nieaktywnych biologicznie metabolitów, przez co może modulować docelowe działanie prostaglandyn. Wyniki dotyczące zmian ekspresji białka enzymu dehydrogenazy 15-hydroksyprostaglandynowej w endometrium i zarodku oraz stężenia metabolitu PGF2 α (PGFM) w endometrium i świotle macicy sugerują udział 15-PGDH w katabolizmie prostaglandyn podczas wczesnej ciąży u świni. Uzyskane wyniki wskazują na zmniejszony katabolizm

prostaglandyn w endometrium 11 dnia ciąży, co może skutkować zwiększeniem koncentracji prostaglandyny E2 o działaniu luteotropowym, podczas macznego rozpoznania ciąży u świni (III.B.3; III.B.28).

Część wyników została wykonana pod moim kierunkiem w ramach dwóch prac magisterskich obronionych na Wydziale Biologii i Biotechnologii UWM w Olsztynie w 2009 i 2013 r.

5.2. Określenie i wyselekcjonowanie markerów biologicznych charakterystycznych dla stanu receptywności macicy, czyli stanu umożliwiającego prawidłową implantację zarodka:

- 5.2.1. Określenie ekspresji czynnika wzrostu śródbłonna naczyń (VEGFA) i jego receptorów w endometrium macicy świni w przebiegu cyklu i ciąży, sugerując zaangażowanie tego systemu ligand-receptor w procesie implantacji oraz rozwoju łożyska (II.A.9; II.A.12; II.A.11; II.A.12; II.A.17).
- 5.2.2. Stwierdzenie bezpośredniego, lokalnego wpływu zarodka na ekspresję mRNA i białka transformującego czynnika wzrostu β (TGF β) w endometrium świni *in vitro* oraz *in vivo* w okresie implantacji. Wykazano także, że TGF β zwiększył proliferację komórek zarodka. Wyniki te wskazują na ważną rolę tej cytokiny w okresie implantacji zarodka (II.A.1; III.B.15; II.D.1).
- 5.2.3. Wykazanie zwiększonej ekspresji prokinetycyny 1 i obecności jej receptora PROKR1 w endometrium i zarodku świni, co świadczy o udziale tego czynnika w mechanizmach związanych z implantacją zarodka świni. Wykazano także, że prokinetycyna 1 reguluje syntezę prostaglandyn w endometrium (III.B.14; III.B.22).

5.3. Porównanie ekspresji wybranych czynników w ciałku żółtym podczas wczesnej ciąży i cyklu rujowego:

- 5.3.1. Wykazanie możliwości syntezy prostaglandyn lokalnie w ciałku żółtym świni, a tym samym autoregulacji jego funkcji. Stosunek syntazy PGE2 do syntazy PGF był podwyższony we wczesnej fazie lutealnej oraz w dniach 5-8 ciąży. Wyniki te sugerują, że przewaga syntezy PGE2 nad PGF 2α w ciałku żółtym może być istotna podczas rozwoju ciałka żółtego we wczesnej fazie lutealnej. Natomiast brak istotnych różnic w profilach ekspresji enzymów syntezy prostaglandyn podczas okresu macznego rozpoznania ciąży oraz odpowiadających dni cyklu rujowego, wskazuje na to, że źródłem PGE2 w ciałku żółtym w 11-13 dniu ciąży jest przede wszystkim zarodek i endometrium. Z drugiej strony, nie można wykluczyć lokalnej syntezy prostaglandyn w ciałku żółtym podczas wczesnej ciąży (II.A.7). Dalsze badania przeprowadzone na modelu *in vivo*, dowiodły, że zawartość PGE2 oraz stosunek zawartości PGE2/PGF 2α są wyższe w ciałkach żółtych jajnika znajdującego się w pobliżu rogu macicy, w którym znajdowały się zarodki w porównaniu do ciałek żółtych przeciwległego jajnika znajdującego się w pobliżu rogu macicy, w którym zarodki nie były obecne. Potwierdza to wcześniejsze wyniki badań własnych (II.A.7), według których wzrost zawartości PGE2 w ciałku żółtym spowodowany jest raczej jej przenikaniem z zarodków i macicy do jajników niż lokalną syntezą tego hormonu w ciałku żółtym w dniach 12-14 ciąży. (II.A.8).

5.3.2. Określenie ekspresji VEGFA (VEGF164) i jego receptorów w ciałku żółtym świni podczas wczesnej ciąży oraz cyklu rujowego; wykazanie wysokiej ekspresji białka VEGFA we wczesnej i środkowej fazie lutealnej. Badania te sugerują udział tego systemu ligand-receptor w rozwoju oraz utrzymaniu czynności ciałka żółtego u świni. (II.A.15).

5.4. Zbadanie wpływu synchronizacji cyklu rujowego na funkcje endometrium i jajowodu u loszek:

5.4.1. Wykazanie obniżonej ekspresji potencjalnych markerów receptywności genów: HoxA10, TGF β 1, LIF i enzymów szlaku syntezy prostaglandyn w endometrium u loszek w 12 dniu ciąży z naturalną owulacją w porównaniu do loszek ze stymulowaną owulacją. Zmieniony profil ekspresji szeregu kluczowych genów warunkujących prawidłowość interakcji zarodek-matka, może świadczyć o braku gotowości macicy, jak również zarodka do implantacji u loszek z synchronizowaną rują. Stwierdzono nie tylko obniżoną ekspresję białka syntazy PGE2, ale również mniejszą sekrecję PGE2 przez endometrium w 12 dniu ciąży u loszek z owulacją indukowaną PMSG/hCG. (II.A.6; III.B.36; III.B.37).

5.4.2. Dowiedzenie, że gonadotropiny (hCG/PMSG) używane do synchronizacji cyklu rujowego oraz wywołania superowulacji u loszek zmieniają ekspresje genów i białek enzymów syntezy prostaglandyny E2 i F2 α , a także sekrecje tych prostaglandyn w jajowodzie. Synteza PGF2 α była zwiększona w tkance jajowodu loszek pod wpływem podawania hCG i PMSG w porównaniu do loszek inseminowanych bez zastosowania procedur synchronizacji cyklu rujowego. Wyniki te sugerują, że hormony stosowane w biotechnikach rozrodu mogą zaburzać mikrośrodowisko występujące w jajowodzie podczas transportu gamet i zarodków. (II.A.2; III.B.5 – prezentacja plakatu wyróżniona na XLVII Sympozjum Polskiego Towarzystwa Histochemicznego i Cytochemicznego).

5.5. Próba opracowania metody ograniczającej śmiertelność zarodków u świni:

5.5.1. Wyniki badań prezentowanych jako osiągnięcie habilitacyjne dały podstawy do prowadzenia badań aplikacyjnych w naszym Zakładzie w ramach grantu rozwojowego NCBiR nr 12-0039-10/2010 (2010-2013), którego celem było opracowanie nowej metody zmniejszenia śmiertelności zarodków u świń. Wynikiem badań było opublikowanie postępowania i zalecenia przy potencjalnym zagrożeniu pojawienia się zaburzeń sekrecji progesteronu u loszek i loch (monografia pt: "Przyczyny i zapobieganie dysfunkcji oraz przedwczesnej regresji ciałek żółtych u świni" pod red. A. Zięcika i Z.Smorąga; ISBN 978-83-923855-7-8) (II.A.4 oraz II.D.2).

Znaczna część przedstawionych osiągnięć w zakresie biologii rozrodu, będąca podstawą rozprawy doktorskiej oraz niniejszego postępowania habilitacyjnego, a także wyniki pozostałych wyżej wymienionych badań, zostały opublikowane w publikacjach przeglądowych w czasopiśmie z bazy JRC (I.B.3; II.A.4; II.A.10; II.A.11; II.A.12; II.A.16; II.A.17; II.A.22) oraz rozdziałach w anglojęzycznych monografiach (II.D.1, II.D.3, II.D4).

Współpraca krajowa:

- Państwowy Instytut Weterynaryjny w Puławach, Zakład Chorób Świń pod kierunkiem prof. dr hab. Zygmunta Pejśka. Współpraca dotyczyła badań nad ekspresją genów enzymów biorących udział w syntezie prostaglandyn COX-1 i COX-2 (PTGS1 i PTGS2) w endometrium świni w przebiegu cyklu rujowego i wczesnej ciąży. Efektem współpracy jest oryginalna publikacja eksperymentalna (II.A.18);
- Zakład Biologii i Gamet Zarodka Instytutu Rozrodu Zwierząt i Badań Żywności Polskiej Akademii Nauk w Olsztynie, Zespół Biologii Zarodka pod kierunkiem dr Marka Bogackiego. Współpraca dotyczyła badań nad ekspresją enzymów szlaku syntezy prostaglandyn i zawartości prostaglandyny E2 i PGF2 α w ciałkach żółtych w czasie ciąży u świni. Ponadto współpraca dotyczyła także badań nad określeniem ekspresji markerów receptywności endometrium, m.in. z wykorzystaniem modelu *in vivo* ciąży jednostronnej u świni. Efektem są dwie oryginalne publikacje eksperymentalne i publikacja przeglądowa (II.A.7; II.A.8; II.A.10) oraz wspólne komunikaty naukowe (III.B.23; III.B.46);
- Zakład Lokalnych Regulacji Fizjologicznych Instytutu Rozrodu Zwierząt i Badań Żywności Polskiej Akademii Nauk w Olsztynie, dr n. wet. Jolanta Muszak. Współpraca dotyczy badań z wykorzystaniem modelu *in vivo* w celu zbadania wpływu PGE2 na ekspresję genów szeregu czynników w endometrium świni (III.B.11);
- Uniwersytet Warmińsko-Mazurski, Wydział Nauk Medycznych, Katedra Farmakologii i Toksykologii, dr hab. n. wet. Waldemar J. Grzegorzewski, prof. nadzw. Współpraca dotyczy badań z wykorzystaniem modelu *in vivo* w celu zbadania wpływu PGE2 na funkcje endometrium świni (III.B.11).

Współpraca z ośrodkami zagranicznymi:

- Medical Research Council, Human Reproductive Sciences Unit, Edynburg, Wielka Brytania, prof. Henry Jabbour. Efektem współpracy są dwie oryginalne prace eksperymentalne (I.B.2; I.B.4) oraz komunikaty naukowe (III.B.14; III.B.22; III.B.33; III.B.35);
- University of Turku, Institute of Biomedicine, Prof. Nafis Rahman, dr hab. Adolfo Rivero-Muller, prof. Ilpo Huhtaniemi. Efektem współpracy są cztery publikacje (II.A.16; II.A.19; A.II.20; II.A.22) oraz komunikaty naukowe (III.B.25; III.B.26; III.B.34; III.B.48-50; III.B.53-55);

- Ludwig Maximilians University i Gene Center w Monachium, dr hab. Stefan Bauersachs z Politechniki Federalnej w Zurichu (obecna afiliacja) oraz dr. H. Blum z Ludwig Maximilians University i Gene Center w Monachium. Współpraca w badaniach nad globalnym profilem ekspresji genów w zarodku i endometrium pod wpływem działania prostaglandyn (III.B.4).

Pełna lista moich **osiągnięć dotyczący pracy badawczej, dydaktycznej i organizacyjnej** znajduje się w Załączniku IV pt: „Wykaz opublikowanych prac naukowych oraz informacja o osiągnięciach dydaktycznych, współpracy naukowej i popularyzacji nauki”.

Podsumowując, brałam udział lub obecnie uczestniczę w realizacji 13 projektów badawczych, w tym w czterech byłam/jestem kierownikiem. Odbywałam staże w zagranicznych ośrodkach naukowych: w Medical Research Council w Edynburgu; Ludwig Maximilians University i Gene Center w Monachium; University of Turku oraz University of Sheffield.

Wyniki badań prezentowałam w formie wykładów na zaproszenie i referatów (14) oraz plakatów (18) na licznych konferencjach międzynarodowych i krajowych. Wiele z moich prezentacji wyników badań zostało nagrodzonych na konferencjach międzynarodowych krajowych (II.J.). Z 60 komunikatów naukowych, w 33 jestem pierwszym autorem. Najważniejsze wykłady, które wygłosiłam na zaproszenie, miały miejsce na międzynarodowych konferencjach: Society for Reproduction and Fertility (Wielka Brytania, 2011 i 2005), Society for the Study of Reproduction (USA, 2011) oraz International Conference on Pig Reproduction (Kanada, 2009). Przewodniczyłam także sesji tematycznej *Pregnancy* na konferencji World Congress of Reproductive Biology (Wielka Brytania, 2014).

Współpracując z redakcjami czasopism o zasięgu międzynarodowym z bazy JCR, wykonałam recenzje oryginalnych publikacji eksperymentalnych dla czasopism *Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* (1 recenzja); *Reproduction* (3); *BMC Genomics* (1); *Reproductive Biology and Endocrinology* (1); *Physiological Genomics* (1) oraz *Journal of Endocrinology* (1).

Jestem przedstawicielem Polski w Management Committee Akcji COST FA1201 Epiconcept pt.: „Epigenetics and Periconception Environment”. W ramach tego programu współpracuję z dr hab. Stefanem Bauersachsem z Politechniki Federalnej z Zurichu (poprzednia afiliacja LMU i Gene Center Monachium). Ponadto, od 2012 r. wchodzę w skład Zarządu Towarzystwa Society for Reproduction and Fertility. Zostałam także członkiem Akademii Młodych Uczonych PAN oraz Komitetu Biologii Rozrodu PAN.

Jestem laureatką licznych nagród i stypendiów naukowych, m.in. prestiżowego wyróżnienia New Investigator Award przyznanego przez Society for Reproduction and Fertility, Burgen Scholar of the Academy of Europe, stypendium dla wybitnych młodych naukowców MNiSW, START Fundacji Nauki Polskiej, *Pro Scientia et Vita* Fundacji Członków PAN, Lauru „Najlepszym z najlepszych”.

Byłam promotorem 3 prac magisterskich, a od 2013 roku, decyzją Rady Wydziału Biologii i Biotechnologii Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego w Olsztynie, pełnię funkcję promotora pomocniczego w przewodzie doktorskim. Byłam także recenzentem rozprawy doktorskiej pt:

"Characterization of signalling cross-talk between the EP2 and FP receptors in endometrial epithelial cells" obronionej na University of Cape Town (RPA).

Na Wydziale Biologii UWM w latach 2002-2005 prowadziłam zajęcia dydaktyczne ze studentami III i IV roku Biotechnologii z następujących przedmiotów: podstawowe techniki biologii molekularnej, fizjologia zwierząt i inżynieria genetyczna.

Moja działalność popularyzacyjna obejmuje: przygotowanie i prowadzenie warsztatów pt: „Dlaczego badamy geny?” oraz zorganizowanie kawiarni naukowej „Od nauki do biznesu” w czasie Europejskiej Nocy Naukowców *Fusion Night* w Instytucie Rozrodu Zwierząt i Badań Żywności PAN; przygotowanie i prowadzenie warsztatów pt: „DNA” na stanowisku Akademii Młodych Uczonych PAN na XVIII Pikniku Naukowym Polskiego Radia i Centrum Nauki Kopernik w Warszawie; zdeponowanie sekwencji pełnego cDNA syntazy PGF i syntazy PGE2 świni w bazie GenBank oraz autorstwie/współautorstwie 3 publikacji popularyzacyjnych.

Zestawienie danych dotyczących dorobku naukowego

Rodzaj opracowania	Przed doktoratem	Po doktoracie	Razem
Rozdziały w monografiach	1	3	4
Oryginalne prace eksperymentalne:			
- w czasopismach znajdujących się w bazie Journal Citations Reports (JCR)	5	14	19
Prace przeglądowe:			
- w czasopismach znajdujących się w bazie Journal Citations Reports (JCR)	1	7	8
Komunikaty naukowe	20	40	60
Ogółem	27	63	90

Dane bibliometryczne dla całego dorobku naukowego:

Sumaryczny współczynnik wpływu (*impact factor*) według listy JCR, zgodnie z rokiem opublikowania = **52,202**

Liczba cytowań publikacji według bazy Web of Science = **306**

Index Hirsha według bazy Web of Science = **11**

Sumaryczna ilość punktów MNiSW = **599**

Sumaryczna ilość punktów MNiSW zgodnie z aktualnie obowiązującą listą czasopism punktowanych (2013 r.) = **773**

Agnieszka Wierzbicka

ZAŁĄCZNIK

Dear Dariusz Skarzynski

2013 Impact Factor

Reproduction has received an impressive impact factor of 3.262. The journal remains in the top quartile of journals ranked in the Reproductive Biology category. We would like to thank the expert Editorial Board for maintaining the highest quality of published papers.

[Submit your best work](#)

Top 10 cited papers from 2011 and 2012

The 2013 Impact Factor is a measure of the average number of citations in 2013 of papers published in 2011 and 2012.

We would like to acknowledge the fantastic content that has contributed to the 2013 Impact Factor by showcasing **the top 10 cited papers published in *Reproduction* during 2011 and 2012:**

Current progress in oocyte and embryo cryopreservation by slow freezing and vitrification. Joseph Saragusty and Amir Arav.

The sperm nucleus: chromatin, RNA, and the nuclear matrix. Graham D Johnson, Claudia Lalancette, Amelia K Linnemann, Frederic Leduc, Guylain Boissonneault and Stephen A Krawetz.

Metabolism of the preimplantation embryo: 40 years on. Henry J Leese.

The sperm epigenome and potential implications for the developing embryo. Timothy G Jenkins and Douglas T Carrell.

Genomic imprints as a model for the analysis of epigenetic stability during assisted reproductive technologies. Michelle M Denomme and Mellissa R W Mann.

A balancing act: mechanisms by which the fetus avoids rejection by the maternal immune system. J C Warning, S A McCracken and J M Morris.

Influence of energy balance on the somatotrophic axis and matrix metalloproteinase expression in the endometrium of the postpartum dairy cow. Claire D Wathes, Zhangrui Cheng, Mark A Fenwick, Richard Fitzpatrick and Joe Patton.

Identification of miRNAs associated with the follicular-luteal transition in the ruminant ovary. D McBride, W Carre, S D Sontakke, C O Hogg, A Law, F X Donadeu and M Clinton.

Novel insights into the mechanisms of pregnancy establishment: regulation of prostaglandin synthesis and signaling in the pig.
[Agnieszka Waclawik.](#)

Sperm surface changes and physiological consequences induced by sperm handling and storage. Tamara Leahy and Bart M Gadella.

[Register for Table of Contents alerting for the latest content](#)

straight to your inbox



Society for Reproduction
and Fertility

[Submit your best work](#)

[Table of Contents alerting](#)

[Current Issue](#)

News from Bioscientifica:

Bioscientifica journals continue to be rated as leading and influential journals in their respective fields. Two in five journals are in the top quartile in the category that they are ranked in, with the remainder in the second quartile.

published by
bioscientifica