

Prof. dr hab. Jan Udała
Katedra Biotechnologii Rozrodu Zwierząt
i Higieny Środowiska
Zachodniopomorski Uniwersytet
Technologiczny w Szczecinie

Recenzja

pracy doktorskiej mgr Pauliny Cieśli pt. „Zaburzona homeostaza androgenowa a funkcje i morfologia wątroby – zwierzęcy model doświadczalny oparty na męskim pokoleniu potomnym (F1) od samców (F0) z farmakologicznie wywołanym deficytem DHT”, wykonanej w Katedrze i Zakładzie Histologii i Embriologii Pomorskiego Uniwersytetu Medycznego w Szczecinie pod kierunkiem dr hab. n. med. Agnieszki Kolasa

Nadmierna eksploatacja i niewłaściwe gospodarowanie dostępnymi zasobami przyrody doprowadziło do katastrofalnych już zmian w otaczającym nas środowisku, w efekcie czego narażeni jesteśmy na bezpośrednie oddziaływanie różnych szkodliwych czynników. Czynnikiemami tymi są między innymi wydobywające się z dymiących kominów niebezpieczne pyły i gazy, wytwarzane przez przemysł różne związki chemiczne, ropopochodne, środki ochrony roślin, nieodpowiednio zagospodarowane odpady i szereg innych środków. Dla wielu z nich, jak np. DDT czy dioksyn już stosunkowo dawno i bezprzeczenie wykazano negatywny wpływ na przebieg różnych procesów fizjologicznych w organizmie, w tym również na przebieg procesów rozrodczych u zwierząt i ludzi. Niektóre z nich mogą wywoływać trwałe zmiany w genomie, a ich szkodliwe działanie może się ujawniać w następnych pokoleniach. Wiele z nich wpływa na układ endokryny, zaburza równowagę hormonalną w organizmie i powoduje zakłócenia w przebiegu funkcji rozrodczych. Należą do wspólnej grupy związków określanej jako „endocrine disruptors”.

Inną grupą związków o podobnym działaniu i stanowiących coraz większy problem w tym względzie są różnego rodzaju leki, stymulatory wzrostu czy też używki, stosowane w nieodpowiedni i niekontrolowany sposób. Im też w znacznej mierze przypisuje się obserwowany w ostatnich dekadach wyraźny spadek płodności męskiej. Mogą one w różny sposób modulować działanie hormonów, np. blokować ich receptory, zmieniać aktywność enzymów biorących udział w steroidogenezie itp. Jedną z takich substancji jest finasteryd, będący aktywnym składnikiem leków stosowanych w terapii m.in. raka prostaty czy łysienia androgenowego. Jego działanie przejawia się w hamowaniu 5 α -reduktazy typu 2,

katalizującej redukcję testosteronu do aktywniejszego od niego dihydrotestosteronu (DHT). Zaobserwowane negatywne zmiany u pacjentów przyjmujących przewlekłe ten lek, wyrażające się m.in. pogorszeniem libido i spadkiem jakości nasienia, skłoniły badaczy do zajęcia się tym problemem i wyjaśnieniem mechanizmów jego działania. Badania takie podjął również Zespół Katedry i Zakładu Histologii i Embriologii PUM w Szczecinie, określając na modelu zwierzęcym w różnych układach doświadczalnych wpływ finasterydu na funkcję jąder i najądrzy oraz występowanie wybranych zaburzeń metabolicznych w organizmie. Interesujących danych dostarczyły między innymi badania wykonane przez Panią Promotor niniejszej dysertacji, w których wykazano szereg zmian w ekspresji kluczowych enzymów antyoksydacyjnych i antygenów wchodzących w skład połączeń międzykomórkowych, prowadzących do zaburzeń przebiegu spermatogenezy u szczurów otrzymujących finasteryd. Podobne zmiany w przypadku wielu badanych parametrów określających status jąder i najądrzy stwierdzono u synów samców otrzymujących ten lek, co pozwoliło na sugestię o jego międzypokoleniowym oddziaływaniu.

Mając na uwadze funkcje jakie pełni wątroba w organizmie, w tym również w metabolizmie hormonów steroidowych, celowym i uzasadnionym było uwzględnienie w prowadzonych przez Zespół badaniach nad finasterydem, jego oddziaływania w dłuższym okresie czasu. Uzyskane wyniki przez Autorkę w niniejszej pracy, sugerujące wystąpienie niektórych zespołów metabolicznych czy też stłuszczenie wątroby u zwierząt pokolenia F1, których ojcowie otrzymywali ten składnik, potwierdza słuszność obranego kierunku badań.

Praca ma charakter studium eksperymentalnego dotyczącego ogólnie analizy wybranych markerów metabolizmu węglowodanowo-lipidowego i zdolności proliferacyjnej hepatocytów oraz wrażliwości komórek wątroby na androgeny i estrogeny u zwierząt, których ojcowie otrzymywali i nie otrzymywali finasteryd. Praca liczy 109 stron i składa się z dwóch części. Pierwsza część opracowana została na podstawie dwóch prac naukowych, przeglądowej i oryginalnej pracy twórczej. Na początku zamieszczono wykaz stosowanych skrótów, podając ich 72, co może już wskazywać na szeroki zakres omawianych zagadnień. Następnie zamieszczono notatkę informacyjną, wyjaśniającą sprawy formalne związane z przygotowaniem pracy. Kolejny rozdział to wprowadzenie, w którym zawarto podrozdział uzasadnienie wyboru tematu oraz trzy podrozdziały dotyczące hormonozależnego metabolizmu lipidów oraz glukozy w wątrobie, a także krótki podrozdział na temat regeneracji, degeneracji i karcynogenezy w odpowiedzi na hormony płciowe. Dalej Autorka zamieszcza rozdział założenia i cele pracy doktorskiej oraz spodziewane korzyści badania, a po nim rozdział model badawczy oraz metody badań, w którym podano jakimi metodami

określano poszczególne wskaźniki i jakie zastosowano metody statystyczne. Następnie dokonuje syntetycznego streszczenia dwóch publikacji stanowiących rozprawę doktorską, które też dołącza.

Drugą część pracy stanowią nieopublikowane wyniki badań na temat ekspresji receptora estrogenowego alfa i indeksu mitotycznego hepatocytów wątroby męskiego potomstwa samców szczurów otrzymujących finasteryd. Przedstawiona została w formie maszynopisu z podziałem na wstęp, cel pracy, materiał i metody, wyniki, dyskusja.

Po tej części zamieszczono rozdział wnioski, następnie streszczenie w języku polskim i angielskim, oświadczenia współautorów publikacji, a na koniec piśmiennictwo.

Tytuł pracy jest dosyć długi ale ogólnie adekwatny do podjętej problematyki badawczej. Można było ewentualnie zaznaczyć, że dotyczy szczurów. Mając na uwadze jednorodność materiału i spójność tematyki badawczej możliwym było również przygotowanie dysertacji w formie jednego manuskryptu poprzez połączenie analogicznych rozdziałów i omówienie łączne wyników z pierwszej i drugiej części. Przyjęty schemat pracy nie wpływa jednak na jej wartość merytoryczną. Pozwala w pełni prześledzić tok postępowania w dążeniu do osiągnięcia zamierzonych celów, zapoznać się z zastosowanymi specjalistycznymi technikami badawczymi, osiągniętymi wynikami właściwie zinterpretowanymi i dokonany podsumowaniami.

Z wybranymi zagadnieniami z zakresu podjętej problematyki badawczej Autorka zapoznaje czytelnika we wprowadzeniu. Na samym początku zwraca uwagę na związki chemiczne zaburzające gospodarkę hormonalną (EDCs, ang. endocrine disrupting chemicals), które poprzez interakcję z układem hormonalnym wykazują niekorzystny wpływ na przebieg procesów fizjologicznych w organizmie. Cytując innych autorów podkreśla, że nie tylko narażenie matki, ale także ojca na szkodliwe chemikalia może pociągać za sobą zmiany u potomstwa. Zaznacza, że w kontekście międzypokoleniowym może być rozważane również działanie finasterydu, będącego substancją czynną niektórych leków stosowanych w leczeniu wybranych zaburzeń u mężczyzn. Możliwość jego oddziaływania na komórki wątroby pełniące kluczowe funkcje w organizmie, m.in. w metabolizmie hormonów steroidowych, w pełni uzasadnia prześledzenie wybranych procesów zachodzących w tym gruczole samców, których ojcowie otrzymywali ten składnik. Przytaczając prace innych badaczy, Autorka wskazuje na możliwość kontroli funkcji wątroby przez hormony płciowe. Podaje przykłady dowodzące występowania różnic w czynnościach tego gruczołu zależnych od płci i związanych z nią chorób. Opierając się na wielu materiałach źródłowych dowodzi istotnego wpływu hormonów steroidowych na metabolizm lipidów w wątrobie. Wskazuje na

możliwą supresyjną rolę testosteronu wobec ekspresji enzymów regulujących syntezę kwasów tłuszczowych i jego protekcyjną rolę wobec stłuszczenia wątroby. Podaje, że metabolizm lipidów i węglowodanów jest ściśle ze sobą powiązany i wzajemnie zależny poprzez substraty, metabolity, enzymy oraz mechanizmy regulacyjne. Nadmieniając o regulacyjnej funkcji insuliny w lipogenezie, podejmuje próbę wyjaśnienia patogenezy insulinooporności u hipogonadycznych myszy z brakiem receptora androgenowego. Zaznacza jednak, że szczegóły dotyczące mechanizmów leżących u podstaw tego, w jaki sposób sygnalizacja androgenowa poprzez AR reguluje wrażliwość na insulinę w poszczególnych narządach pozostają niejasne. Przytacza nie zawsze w pełni zgodne dane, z których generalnie wynika, że u mężczyzn niedobór testosteronu zwiększa insulinooporność i upośledza tolerancję glukozy. Podobne efekty występują u szczurów z deficytem bądź zahamowaną aktywnością 5 α -reduktazy typu 1, które można osiągnąć po podaniu finasterydu. U otyłych samców tych zwierząt indukuje on hiperinsulinemię i stłuszczenie wątroby, zarówno u wykastrowanych jak i nie poddanych zabiegowi kastracji.

W ostatnim podrozdziale Autorka przytacza dowody na zaangażowanie hormonów steroidowych w regulację wybranych funkcji wątroby. Nadmienia między innymi, że szlak androgenowy odgrywa rolę w fizjologii komórek tego gruczołu i regulowaniu apoptozy, a sygnalizacja estrogenowa kontroluje proliferację hepatocytów i ma kluczowe znaczenie dla skutecznej regeneracji wątroby.

Następny rozdział zatytułowano jako główne założenia i cele pracy doktorskiej oraz spodziewane korzyści badania. Dotyczy on trzech wątków i nie wydaje się w pełni spójny z podaną treścią. Pierwsza bowiem część jest raczej uzasadnieniem, druga część jest celem z trzema zadaniami, a trzecia spodziewane korzyści badania, nie dotyczy bezpośrednio mężczyzn lecz szczurów. Można jedynie sugerować podobny wpływ finasterydu u mężczyzn jak u szczurów. Lepszym byłoby postawienie hipotezy badawczej, np. podanie finasterydu ojcom pokolenia rodzicielskiego ma wpływ na kształtowanie się wybranych wskaźników charakteryzujących metabolizm węglanowo-lipidowy, zdolność proliferacyjną i wrażliwość na hormony płciowe komórek wątroby samców szczurów pokolenia potomnego, a następnie krótko sprecyzować cel, np. celem niniejszej pracy była ocena wybranych wskaźników metabolizmu.....w komórkach wątroby samców szczurów po podaniu ich ojcom finasterydu. Szczegółowe natomiast zadania (określenie wskaźników) można podać w materiałach i metodach.

W następnym rozdziale zatytułowanym model badawczy przedstawiono zwierzęta, na których wykonano badania oraz sposób pobrania od nich materiału i dalsze z nim

postępowanie. W metodach badań zaprezentowano zastosowane rutynowe techniki barwienia, przebieg postępowania przy reakcji immunohistochemicznej oraz analizach ekspresji genów na poziomach mRNA techniką qRT-PCR, a także wykorzystane metody statystyczne. Szeroka gama użytych specjalistycznych technik laboratoryjnych świadczy o bogatym warsztacie i dużym potencjale Zespołu w zakresie realizacji prac badawczych.

Pierwsza z zaprezentowanych prac stanowi najnowsze kompendium wiedzy z zakresu roli hormonów płciowych w metabolizmie wątroby. Przygotowano ją na podstawie bogatego piśmiennictwa, liczącego 166 pozycji, w większości z ostatniego piętnastolecia. Udział Doktorantki w powstaniu publikacji jest znaczący i stanowi według złożonego oświadczenia 50%. Niewątpliwie, opracowanie pracy o tak szerokiej i złożonej problematyce, wymagało gruntownej wiedzy i zaangażowania Autorów. Praca ta ujmuje kompleksowo zagadnienie zależnego od hormonów płciowych metabolizmu glukozy i lipidów w zdrowych i chorobowo zmienionych komórkach wątroby. Przedstawia fakty i hipotezy dotyczące związku androgenów i estrogenów z występowaniem różnych zaburzeń i chorób u zwierząt i ludzi. Poza znanymi już szlakami przekazywania sygnałów i efektami oddziaływania steroidów na hepatocyty, w wielu przypadkach występujące różnice w tym względzie między płciami nie do końca zostały poznane. Wyjaśnienie tych różnic, np. przy wrodzonej odpowiedzi immunologicznej w zakażeniach wirusowego zapalenia wątroby typu B, jest istotne z poznawczego i aplikacyjnego punktu widzenia. Dlatego też poza dostarczeniem czytelnikowi obszernej wiedzy na dany temat, niezaprzeczalną wartością tej pracy, jest wskazanie pozostałych do rozwiązania problemów i zainspirowanie badaczy do podjęcia działań w określonych kierunkach.

Przyjęta forma przygotowania dysertacji na podstawie opublikowanych już prac naukowych w uznanych czasopismach o zasięgu międzynarodowym, ułatwia w znacznym stopniu wykonanie zadania postawionego przed recenzentem w zakresie merytorycznej oceny pracy. Prace te bowiem uzyskały pozytywne opinie niezależnych ekspertów związanych z daną problematyką co świadczy o ich dużej wartości naukowej. Rola oceniającego powinna więc raczej skupiać się na ocenie komplementarności i spójności prac, ich znaczenia dla rozwoju wiedzy w danej dyscyplinie oraz polemice z Autorką na temat rozwiązywanego problemu.

Po dobrym wprowadzeniu w złożoną problematykę zależnego od hormonów płciowych metabolizmu glukozy i lipidów w pierwszej pracy, uzyskane wyniki w tym zakresie w ujęciu międzypokoleniowym, Autorka prezentuje w drugiej oryginalnej pracy twórczej. Zawarte są w niej główne cele jakie postanowiła sobie w całej dysertacji.

Jak wynika ze złożonego oświadczenia udział Doktorantki w powstanie tej pracy jest wiodący i w ujęciu wskaźnikowym wynosi 50%. Wskazuje to na Jej zaangażowanie w proces powstania i wydania publikacji. Udział ten polegał na wykonaniu doświadczeń i analiz laboratoryjnych oraz przygotowaniu manuskryptu do publikacji. Doktorantka nie uczestniczyła w opracowaniu koncepcji i założeń badań ale wydaje się to zrozumiałe, mając na uwadze długofalowy charakter realizowanych prac badawczych w Zespole i ustalony zapewne wcześniej plan pracy. Pełnienie jednak znaczącej roli w procesie powstawania pracy świadczy o posiadanych zdolnościach organizacyjnych przez Doktorantkę i umiejętnościach współpracy z innymi Członkami Zespołu, co jest niewątpliwie pozytywną cechą, zważywszy znaczenie wspólnie podejmowanych działań i myśli koncepcyjnej w twórczej działalności naukowej. Zastosowanie specjalistycznych technik badawczych i właściwych metod w analizie statystycznej pozwoliło Autorce uzyskać interesujące, aczkolwiek nie zawsze jednoznaczne wyniki dla analizowanych wskaźników. Między innymi w każdej grupie wiekowej szczurów F1:Fin, w hepatocytach zaobserwowano podwyższoną akumulację glikogenu w porównaniu do F1:Control, ale nie korelowała ona ze zmianami immunokspresji transportera glukozy 2 (GLUT2) w hepatocytach. Ponadto u zwierząt F1:Fin, poziomy transkryptów dla GLUT2, receptora insuliny (InR) i receptora androgenowego (AR) oraz ich immunokspresja były wyraźnie obniżone w porównaniu z grupą kontrolną. Nie wykazano znaczących zależności w grupie szczurów F1:Control między stężeniami T i DHT w surowicy a poziomami transkryptów GLUT2, InR i AR. W drugiej natomiast doświadczalnej grupie, wykazano statystycznie istotnie ujemną korelację tylko pomiędzy stężeniem powyższych androgenów a transkrytem AR. W grupie tej stwierdzono podwyższony poziom glukozy w porównaniu do szczurów kontrolnych, jednak jej stężenie w surowicy zwierząt obu grup nie było związane z wiekiem oraz poziomem mRNA dla GLUT2. U potomstwa pochodzącego po samcach otrzymujących finasteryd, po osiągnięciu dojrzałości płciowej zaobserwowano stłuszczenie wątroby.

Powyższe wyniki skłoniły Autorkę do wyciągnięcia wniosku o międzypokoleniowym działaniu finasterydu oraz prawdopodobnych epigenetycznych skutkach ubocznych mogących prowadzić do niektórych zespołów metabolicznych, takich jak hiperglikemia, insulinooporność, cukrzyca typu 2 lub stłuszczenie wątroby u mężczyzn.

W odniesieniu do użytych sformułowań we wniosku mam pewne sugestie. Mianowicie, w kontekście mimo wszystko zróżnicowanych i nie w pełni jednoznacznych wyników, sugerowałbym użycie raczej trybu przypuszczającego w odniesieniu do międzypokoleniowego oddziaływania finasterydu. Ponadto badania przeprowadzono na

szczurach, dlatego też nie w pełni poprawnym jest bezpośrednio odnoszenie wyników do mężczyzn. Na tym etapie badania te należy traktować jako modelowe, wskazujące na pewne tendencje i możliwości wystąpienia zmian w metabolizmie hepatocytów szczurów, których ojcowie otrzymywali finasteryd.

Jako uzupełnienie pracy Autorka przedstawiła badania mające na celu analizę poziomu proliferacji hepatocytów w korelacji z ekspresją ER α w wątrobie szczurów, po podaniu ich ojcom finasterydu w porównaniu do samców, których ojcowie nie otrzymywali tego środka. Postawienie takiego celu i podjęcie badań aby go osiągnąć było słuszne mając na uwadze fakt, że wątroba jest narządem estrogeno-zależnym. Zagadnienie to Doktorantka rozwija we wstępie, przytaczając badania różnych autorów potwierdzających występowanie wielu zaburzeń i chorób wątroby zależnych od hormonów płciowych. Nawiązując m.in. do złożonych zależności pomiędzy estrogenami/ER α oraz/lub androgenami/AR w tkance zdrowej i ze zmianami rozrostowo-nowotworowymi stawia zasadnicze pytanie, czy w chorobowo zmienionej tkance wątrobowej kluczowa jest równowaga pomiędzy ekspresją AR a ER α oraz równowaga androgenowo-estrogenowa, analogicznie jak w przypadku raka prostaty?. Stąd też w pełni należy się zgodzić z końcową konkluzją Autorki we wstępie pracy, że ze względu na zaburzanie tej równowagi przez finasteryd, ciekawym aspektem wydaje się prześledzenie tego w odniesieniu do interferowania czy współdziałania różnych hormonów steroidowych w hepatocytach.

Do badań wykorzystano ten sam materiał co w części pierwszej. Do analizy immunoekspresji ER α i PCNA z zastosowaniem reakcji immunohistochemicznej zastosowano komercyjny zestaw, a analizę ilościową tych wskaźników przeprowadzono na podstawie skanowania preparatów histologicznych, stosując specjalistyczne techniki z zakresu obrazowania cyfrowego. Do porównania uzyskanych wyników zastosowano odpowiednie metody statystyczne, zarówno testy parametryczne jak i nieparametryczne. Uzyskane wyniki zaprezentowano w formie reprezentatywnych mikrofotografii przedstawiających immunoekspresję ER α i PCNA oraz w formie wykresów odsetek komórek ER α -dodatnich i PCNA-dodatnich w hepatocytach wątrób szczurów w poszczególnych dniach rozwoju w obu grupach badawczych.

Poprawny opis technik i procedur badawczych świadczy o dobrym przygotowaniu Autorki pracy od strony analitycznej. Wykonanie specjalistycznych testów, poza opanowaniem technik badawczych, wymagało od Niej dużego zaangażowania i nakładu pracy oraz umiejętności organizacyjnych. Włączenie w cykl badawczych innych osób i skorzystanie z ich doświadczeń świadczy natomiast o umiejętności współpracy w zespole, co jest ważną cechą u młodego badacza.

Przedstawione wyniki w formie graficznej dobrze dokumentują i obrazują zachodzące zmiany w kształtowaniu się analizowanych parametrów w wątrobach szczurów, których ojcowie nie otrzymywali i otrzymywali finasteryd. Zamieszczone mikrofotografie są przejrzyste i w przekonujący sposób odzwierciedlają tendencje zmian zachodzących w kolejnych dniach życia postnatalnego szczurów w obu grupach. Autorka wykazała, że we wszystkich grupach wiekowych odsetek komórek ER α -dodatnich w wątrobach szczurów doświadczalnych był istotnie wyższy niż kontrolnych. W przypadku natomiast komórek PCNA-dodatnich, z wyjątkiem 28 dnia życia postnatalnego, procentowy ich udział był statystycznie istotnie mniejszy niż w tkankach zwierząt kontrolnych. Oszacowane zależności na podstawie współczynników korelacji Rang Spermene'a między immunоекспресją ER α a PCNA wskazały na ich występowanie tylko w grupie zwierząt kontrolnych u szczurów najmłodszych i najstarszych.

W następnym rozdziale Doktorantka przeprowadza dyskusję. W moim odczuciu jest to interesujący rozdział, w którym podjęto próbę przedstawienia uzyskanych wyników na tle osiągnięć innych autorów. Zwraca uwagę na różnice między badaczami w kwestii roli i mechanizmów oddziaływania estrogenów/ER na komórki wątroby, co może być spowodowane różnicami gatunkowymi, modelem badawczym, bądź wynikać mogą z jakości materiału biologicznego czy metody badawczej. Na pewno należy się zgodzić ze stwierdzeniem Autorki, że badania nad molekularnymi mechanizmami up-/down-regulacji ER α w różnych chorobach wątroby potrwają jeszcze wiele lat. Interesujący wątek dyskusji stanowią rozważania nad ewentualną rolą w tym względzie insuliny, której znaczenie przedstawiała Doktorantka w pierwszej części pracy doktorskiej. Obniżona aktywność proliferacyjna hepatocytów zwierząt grupy F1:Fin, Jej zdaniem mogła być związana z wykazaną przez Nią obniżoną wrażliwością na insulinę. W swoich przypuszczeniach powołuje się na najnowsze badania Abu Rmilah i wsp. z 2020 roku o roli insuliny w regeneracji wątroby, przedstawiając możliwą kaskadę zdarzeń w jej mitogennym działaniu w tym narządzie. Interesujące jest także nawiązanie do rozważanego już w pierwszej części stłuszczenia wątroby u dojrzałych szczurów, których ojcowie otrzymywali finasteryd. Do swoich wcześniejszych badań nawiązuje także Autorka w ostatnim fragmencie tego rozdziału, w którym podsumowuje uzyskane wyniki.

Jak zaznaczyłem wcześniej, rozdział ten jest interesujący, Autorka przeprowadza merytoryczną dyskusję na trudne, nie do końca wyjaśnione problemy, wykorzystując najnowsze materiały źródłowe. Świadczy to o Jej gruntownej wiedzy i dojrzałości naukowej. W kontekście jednak międzypokoleniowego działania finasterydu brakuje mi rozważań na

temat ewentualnych mechanizmów, szlaków, dróg jakimi finasteryd, zmieniając równowagę hormonalną (T:DHT) mógłby oddziaływać na następne pokolenie. Wiadomo, że główną rolę w przenoszeniu informacji w tym przypadku odgrywa plemnik. Czy nie należałoby zatem podjąć również badań na poziomie jego struktur odpowiedzialnych za przekazywanie tej informacji? Jakie jest zdanie Doktorantki w tym względzie?

W sformułowanym wniosku Autorka podaje, że stosowanie finasterydu w pokoleniu ojcowskim może prowadzić do efektu międzypokoleniowego, negatywnego dla czynności wątroby ich męskiego potomstwa. Wniosek ten jest słuszny i dobrze, że Autorka sformułowała go w formie przypuszczającej gdyż nie wszystkie wyniki jednoznacznie na taki efekt wskazują. Sądzę, że pracę można było również zakończyć rozdziałem spostrzeżenia i wnioski, gdzie oprócz tego wniosku, można byłoby wskazać najważniejsze spostrzeżenia zawarte w podsumowaniach na końcu obu części pracy i na ich podstawie zainspirować do dalszych prac w obrębie omawianego tematu.

Niniejsza praca stanowi podsumowanie opublikowanych już wyników oraz prezentuje nowe dane ale uzyskane na tym samym materiale. Pomimo że przedstawiono ją w dwóch częściach jest spójna, a otrzymane wyniki się uzupełniają czyniąc pracę bardziej komplementarną. Dotyczy ona wpływu finasterydu, ale nie na organizm samców którym go podano, lecz ich synów. Stąd też z samego założenia, wykazanie takiego wpływu jest trudniejsze i wymaga zastosowania specjalistycznych metod. Autorka podjęła taką próbę wykorzystując duży potencjał badawczy swojej jednostki, zarówno pod względem dostępu do specjalistycznego sprzętu, jak i możliwości skorzystania z bogatego doświadczenia Zespołu. Uzyskane wyniki pozwoliły Jej na sugestie o międzypokoleniowym oddziaływaniu finasterydu na metabolizm wątroby szczurów, pozwoliły lepiej poznać rolę androgenów i estrogenów czy też insuliny w tym narządzie, ale zapewne postawiły też wiele znaków zapytania na drodze prowadzącej do wyjaśnienia mechanizmów jego międzypokoleniowego oddziaływania. Jest to wartość dodana tej pracy, inspirująca do dalszych dociekań, wskazująca na potrzebę wszechstronnej analizy strukturalnej i czynnościowej komórek z wykorzystaniem specjalistycznych metod.

Wniosek końcowy

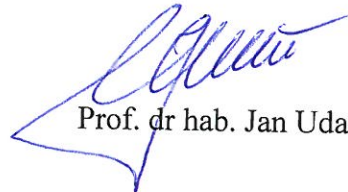
Przedstawiona do oceny rozprawa doktorska ma na obecnym etapie znaczenie poznawcze i ujmuje oddziaływanie finasterydu na organizm zwierząt w szerszym aspekcie, z ewentualnymi skutkami w organizmach następnego pokolenia. Mając jednak na uwadze negatywne następstwa jego stosowania przy niektórych chorobach u mężczyzn, znaczenie

realizowanych badań należy rozpatrywać także w aspekcie aplikacyjnym. Poszczególne etapy pracy zostały poprawnie zrealizowane, co pozwoliło Autorce otrzymać interesujące wyniki, w większości opublikowane w uznanym czasopiśmie, a także przedstawione w formie manuskryptu. W badaniach zastosowano specjalistyczne metody badawcze z zakresu biologii molekularnej oraz podstawowych technik laboratoryjnych, co świadczy o dobrym przygotowaniu Doktorantki od strony analitycznej. Przeprowadzona natomiast wnikliwa i rzeczowa dyskusja z wykorzystaniem aktualnych materiałów źródłowych świadczy o posiadanej przez Nią wiedzy i dojrzałości naukowej.

Praca ta ze względu na podjętą tematykę badawczą, przyjęte rozwiązania metodyczne, osiągnięte interesujące wyniki i sposób ich interpretacji, wnosi nowe wartości do wspólnego dorobku myśli naukowej i przyczynia się do rozwoju badań w uprawianej dyscyplinie naukowej. Inspiruje i zachęca do dalszych prac badawczych w powyższym temacie.

Mając powyższe na uwadze stwierdzam, że praca doktorska mgr Pauliny Cieśli pt. „Zaburzona homeostaza androgenowa a funkcje i morfologia wątroby – zwierzęcy model doświadczalny oparty na męskim pokoleniu potomnym (F1) od samców (F0) z farmakologicznie wywołanym deficytem DHT” odpowiada wymaganiom określonym w ustawie Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce z dnia 20 lipca 2018 r. (Dz.U. 2020, poz. 85 z późn.zm.).

Przedkładam zatem Wysokiej Radzie Naukowej Dyscypliny Nauki Medyczne Pomorskiego Uniwersytetu Medycznego w Szczecinie wniosek o dopuszczenie mgr Pauliny Cieśli do dalszych etapów przewodu doktorskiego.


Prof. dr hab. Jan Udała

Szczecin, 14 lutego 2023 roku