

Prof. dr hab. med. Jolanta Słowikowska-Hilczer

Zakład Endokrynologii Płodności
Katedra Andrologii i Endokrynologii Płodności
Uniwersytet Medyczny w Łodzi
91-425 Łódź ul. S. Sterlinga 5
Tel. 42 633-07-05

Łódź, dn. 04.05.2017 r.

Recenzja rozprawy na stopień naukowy doktora

w dziedzinie nauk biologicznych i dyscyplinie biologia

pt. "Rola androgenów w regulacji czynności prostaty knura: badania *in vivo* i *in vitro*"

mgr Eweliny Górowskiej-Wójtowicz

przygotowanej w Zakładzie Endokrynologii Instytutu Zoologii

Uniwersytetu Jagiellońskiego w Krakowie

pod kierunkiem prof. dr hab. Barbary Bilińskiej

Gruzoł krokowy (łac. prostata) jest integralną częścią męskiego układu płciowego, którego główną rolą jest wytwarzanie wydzieliny stanowiącej ok. 30% plazmy nasienia, która jest środowiskiem dla plemników. Nieprawidłowa czynność prostaty może prowadzić do zaburzeń płodności u mężczyzn. Jak i inne narządy wchodzące w skład tego układu prostata (jej różnicowanie, rozwój i czynność) jest pod wpływem działania androgenów. Aby wyjaśnić mechanizm działania androgenów w prostacie na poziomie komórkowym mgr Ewelina Górowska-Wójtowicz postanowiła zbadać, czy antyandrogen flutamid zaburza funkcjonowanie receptora androgenowego i białek połączeń przylegania (E-kadheryny i β -kateniny) w prostacie knura poprzez wpływ na zmianę ekspresji, lokalizacji i poziomu fosforylacji kinaz białkowych: c-Src, Raf-1, ERK1/2 i kinazy Akt, uczestniczących w nieklasycznej drodze działania androgenów.

Rozprawa doktorska liczy 103 strony maszynopisu i podzielona jest na 8 rozdziałów. We „Wstępie”, liczącym 15 stron, Doktorantka w sposób zwięzły i przejrzysty przedstawiła budowę prostaty, fizjologiczną rolę androgenów w jej działaniu, drogi działania androgenów, a także zastosowanie nowotworowych linii komórek prostaty w badaniach patofizjologii tych nowotworów. Omówiono również rolę połączeń przylegania między komórkami

nabłonkowymi w prostatie i działanie flutamidu. Opisywane zagadnienia ilustrowane są barwnymi schematami.

W rozdziale „Materiał i metody”, który liczy 14 stron, Doktorantka opisała procedury stosowanych metod badawczych. Badania realizowane były w systemie *in vivo* i *in vitro*. W systemie *in vivo* przeprowadzono doświadczenie na knurach, którym podawano flutamid w dawce 50 mg/kg masy ciała co drugi dzień. Doświadczenie przeprowadzono w dwóch grupach wiekowych: 1) w okresie neonatalnym (2-10 dzień po urodzeniu) i 2) w okresie prepubertalnym (90-98 dzień po urodzeniu). W systemie *in vitro* badania prowadzono na ludzkich liniach komórek nowotworu prostaty: 1) posiadających receptor androgenowy i 2) nie posiadających tego receptora. Tkanki prostaty barwione były hematoksyliną i eozyną, a następnie przeprowadzano ich analizę histologiczną i morfometryczną. W celu lokalizacji badanych białek i kinaz białkowych w prostatie zastosowano techniki immunohistochemiczne i immunocytochemiczne. Z kolei w celu wykazania ekspresji genów na poziomie mRNA i białka oraz zmian fosforylacji badanych kinaz zastosowano techniki molekularne i biochemiczne. Na podkreślenie zasługuje zastosowanie różnorodnych nowoczesnych metod do rozwiązywania problemu badawczego i umiejętność interpretacji uzyskanych wyników. Doktorantka szczegółowo omówiła uzyskane wyniki (22 strony) i przedstawiła je w postaci 6 tablic z barwnymi mikrofotografiami, 20 wykresów i 1 tabeli.

W rozdziale „Dyskusja”, który liczy 18 stron, Doktorantka z dużą znajomością tematu zinterpretowała uzyskane przez siebie wyniki na tle dotychczasowych doniesień z literatury światowej. Szczegółowo omówiła wpływ flutamidu na morfologię prostaty knura, ekspresję i lokalizację receptora androgenowego oraz E-kadheryny i β -kateniny, a także wpływ hydroksyflutamidu na lokalizację receptorów androgenowych i badanych kinaz białkowych oraz zmiany poziomu ich fosforylacji, a także E-kadheryny, N-kadheryny i β -kateniny w liniach komórek nowotworowych prostaty.

Z wyników pracy wyciągnięto 4 wnioski, które są odpowiedzią na pytania postawione w celach pracy. Wnioski są oryginalne, nowatorskie i stają się przyczynkiem do poznania fizjologii działania androgenów w prostatie. Autorka stwierdziła, że zarówno zablokowanie przez flutamid klasycznej drogi działania androgenów przez receptor androgenowy, jak i zaburzenia przez hydroksyflutamid nieklasycznej drogi działania androgenów z udziałem kinaz białkowych może być przyczyną nieprawidłowego funkcjonowania połączeń przylegania w prostatie.

W pracy wykorzystano 222 pozycje piśmiennictwa naukowego, w większości angielskojęzyczne, ale z uwzględnieniem również autorów polskich. Około 70% artykułów zostało opublikowanych w latach 2000-2015, przedstawiają więc najnowszy i najbardziej aktualny stan wiedzy na zawarty w pracy doktorskiej temat.

Praca wnosi nowe, interesujące informacje naukowe, jest napisana wartkim językiem naukowym, poprawną polszczyzną, a wnioski są wyciągnięte logicznie na podstawie uzyskanych wyników. Na podkreślenie zasługuje opublikowanie wyników badań w dwóch pracach oryginalnych w czasopismach naukowych *Andrology* i *Toxicology in vitro* o międzynarodowym zasięgu i współczynnikach wpływu odpowiednio 3,502 i 3,338, których Doktorantka jest pierwszym autorem.

Po zapoznaniu się z rozprawą doktorską mgr Eweliny Górskiej-Wójtowicz stwierdzam, że Doktorantka wykazała się dojrzałością i samodzielnością w rozwiązywaniu problemu naukowego, a także dużą wiedzą teoretyczną i praktyczną przy opracowywaniu zagadnienia. Praca w pełni spełnia warunki stawiane na stopień doktora.

Zwracam się do Wysokiej Rady Wydziału Biologii i Nauk o Ziemi Uniwersytetu Jagiellońskiego w Krakowie o dopuszczenie mgr Eweliny Górskiej-Wójtowicz do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Ze względu na wysoki poziom pracy i oryginalność uzyskanych wyników wnioskuję również o **wyróżnienie** rozprawy doktorskiej.

J. Słowikowska-Hilczner
Prof. dr hab. med. Jolanta Słowikowska-Hilczner