

Prof. dr hab. inż. Anna Hrabia  
Katedra Fizjologii i Endokrynologii Zwierząt  
Wydział Hodowli i Biologii Zwierząt  
Uniwersytet Rolniczy w Krakowie  
Al. Mickiewicza 24/28, 30-059 Kraków  
Tel.: 662-40-47; anna.hrabia@urk.edu.pl

Kraków, 09.06.2020

**Recenzja rozprawy doktorskiej**

**mgr Laury Pardyak**

pod tytułem

**"Znaczenie równowagi hormonalnej i połączeń międzykomórkowych  
w jądrach, najądrzach i nasieniowodach indora (*Meleagris gallopavo*)  
z syndromem żółtego nasienia"**

Przedłożona do oceny rozprawa doktorska wykonana pod kierunkiem Pani prof. dr hab. Barbary Bilińskiej dotyczy bardzo aktualnego, niezwykle ważnego problemu naukowego i aplikacyjnego jakim jest występowanie syndromu żółtego nasienia u indora domowego (*Meleagris gallopavo*), co skutkuje obniżeniem potencjału rozrodczego tych ptaków. Badania zrealizowano w ramach projektu badawczego PRELUDIUM 13 (2017/25/N/NZ9/00585) finansowanego przez Narodowe Centrum Nauki oraz dwóch projektów na zadania służące rozwojowi młodych naukowców oraz uczestników studiów doktoranckich na Wydziale Biologii i Nauk o Ziemi UJ. Rozprawa liczy 92 strony, w tym: Wstęp - 14 stron, Hipoteza i cele pracy - 1 strona, Materiały i metody - 11 stron, Wyniki - 25 stron, Dyskusja - 13 stron, Wnioski - 1 strona, Streszczenia w języku polskim i angielskim - 3 strony oraz Literatura - 19 stron. Dodanie wykazu stosowanych skrótów, znacznie ułatwiło lekturę tekstu.

We Wstępie Autorka omawia specyfikę budowy i funkcji gonady męskiej ptaków, regulację czynności tej gonady, znaczenie równowagi hormonalnej w funkcjonowaniu męskiego układu rozrodczego, charakterystykę syndromu żółtego nasienia - zaburzenia występującego u indora domowego, przebieg spermatogenezy i budowę plemnika ptaków oraz molekularną budowę połączeń międzykomórkowych w nabłonku tkanek rozrodczych, wprowadzając czytelnika w tematykę rozprawy oraz uzasadnia cel podjętych badań. Przedstawiane zagadnienia Autorka ilustruje schematami, które ułatwiają odbiór prezentowanej tematyki. Skupienie uwagi na znaczeniu równowagi hormonalnej i komunikacji międzykomórkowej w utrzymaniu prawidłowej czynności jąder oraz na braku w literaturze pełnych danych dotyczących mechanizmów odpowiedzialnych za zaburzenia funkcjonowania komórek i tkanek gonady ptaków, dało podstawę do sprecyzowania hipotezy badawczej zakładającej, że zarówno zmiany hormonalne jak i strukturalne w nabłonku tkanek rozrodczych indora mogą leżeć u podłoża niewyjaśnionego dotychczas pojawiania się syndromu żółtego nasienia. W celu weryfikacji tej hipotezy Autorka bardzo trafnie formułuje cele badawcze:

- (1) Wykazanie zmian ekspresji aromatazy i receptorów estrogenowych w jadrach, najądrzach i nasieniowodach indorów z syndromem żółtego nasienia (YSS) względem kontroli tj. indorów z białym, prawidłowym nasieniem (WNS) oraz w eksplantach jąder indorów po ekspozycji na estradiol
- (2) Określenie poziomu hormonów steroidowych w osoczu, plazmie nasienia i homogenatach badanych tkanek indorów *YSS versus* WNS
- (3) Scharakteryzowanie zmian ekspresji białek połączeń międzykomórkowych (okludyny, ZO-1, Cx43, N-kadheryny, E-kadheryny i  $\beta$ -kateniny) w badanych tkankach
- (4) Wykazanie czy plemniki mogą stanowić źródło estradiolu i być komórkami docelowymi dla tego hormonu oraz czy środowisko hormonalne może mieć wpływ na strukturę plemników izolowanych od indorów *YSS*

(5) Wyjaśnienie związku pomiędzy poziomem steroidów, komunikacją międzykomórkową w nabłonku tkanek rozrodczych, różnicami w ultrastrukturze plemników, a występowaniem syndromu żółtego nasienia u indorów.

Ambitne założenia pracy zostały zrealizowane przez Autorkę z sukcesem. Do realizacji badań zastosowano z powodzeniem dwa modele badawcze, tj. *in vivo* i *ex vivo*. W modelu pierwszym materiał badawczy stanowiły tkanki i plemniki pozyskane od dojrzałych płciowo samców z syndromem żółtego nasienia i produkujących prawidłowe nasienie. Analizowano morfologię jąder, najądrzy, nasieniowodów i nasienia, ultrastrukturę plemników, stężenie hormonów steroidowych (testosteronu i estradiolu) w homogenatach tkanek, osoczu krwi i plazmie nasienia, ekspresję genów i lokalizację aromatazy, receptorów estrogenowych  $\alpha$  i  $\beta$  w tkankach rozrodczych oraz plemnikach, a także ekspresję genów i lokalizację białek połączeń ścisłych, szczelinowych i przylegania. W drugim modelu wykorzystano izolowane i hodowane eksplanty jąder indorów YSS i WNS do oceny wpływu estradiolu na ekspresję aromatazy, receptorów estrogenowych  $\alpha$  i  $\beta$  oraz białek połączeń międzykomórkowych. W badaniach zastosowano nowoczesne i pracochłonne metody badawcze z zakresu biologii molekularnej, w tym ilościową reakcję łańcuchową polimerazy w czasie rzeczywistym, metodę Western blot i immunohistochemiczną. Eksperymenty zostały bardzo starannie zaplanowane i wykonane, a metodyka badań została precyzyjnie opisana w rozdziale Materiały i Metody. Nie znalazłam jedynie informacji, w jaki sposób przygotowano tkanki do analizy stężenia hormonów steroidowych, w jaki sposób oczyszczano RNA podczas jego izolacji oraz na jakiej podstawie wybrano startery do określenia ekspresji badanych genów na poziomie mRNA. Ponadto, nie podano numeru Banku genów (GeneBank accession number) dla analizowanych białek.

Równie przejrzysto i czytelnie jak metody badawcze, przedstawiono wyniki badań. Wyniki są dobrze udokumentowane i przedstawione na 20

tablicach zawierających 61 wykresów i liczne mikrofotografie dobrej jakości technicznej. Wyniki są bardzo interesujące, pozwalają lepiej zrozumieć mechanizmy molekularne funkcjonowania układu rozrodczego samca ptaków oraz mechanizmy leżące u podstaw występowania zaburzenia jakim jest syndrom żółtego nasienia u indorów. Należy podkreślić, że uzyskane wyniki mają nie tylko wartość poznawczą, ale także mają znaczenie praktyczne dla przemysłu drobiarskiego.

Dyskusja jest napisana bardzo dobrze, tekst jest logiczny, wskazujący na pełną znajomość tematu przez Doktorantkę, a podział na tematyczne podrozdziały czyni go przejrzystym. Wyniki badań zostały przedyskutowane z danymi zawartymi w aktualnym światowym piśmiennictwie w sposób wyczerpujący. Na podstawie uzyskanych wyników wyciągnięto 2 wnioski, które trafnie odpowiadają na postawione cele. Zachęcam Autorkę do przedstawienia dalszych perspektyw badawczych (propozycji przyszłych badań) podczas obrony rozprawy doktorskiej.

Spis literatury obejmuje 237 pozycji, z których 26 procent zostało opublikowane w ostatnich dziesięciu latach. Cytowane prace wybrano właściwie.

Podsumowując, przedstawioną do oceny rozprawę oceniam bardzo wysoko. Jest ona obszernym, starannie przygotowanym opracowaniem, zawierającym oryginalne wyniki, które w większości już zostały opublikowane w dobrych czasopismach naukowych indeksowanych w bazie Web of Science tj. British Poultry Science i Poultry Science. Ich sumaryczny IF wynosi 3,123, a suma punktów wg MNiSW 210. Mgr Laura Pardyak wykazała duże predyspozycje i umiejętność wykorzystywania różnorodnych technik badawczych, znajomość przedmiotowego piśmiennictwa, umiejętność planowania i wykonywania doświadczeń, zbierania, opracowania, prezentacji i interpretacji wyników, co predysponuje Ją do dalszej pracy naukowej. Należy podkreślić doskonałe wykorzystanie wszelkich zasad unikatowego warsztatu naukowego stworzonego przez Panią Promotor, prof. dr hab. Barbarę Bilińską.

Z pełnym przekonaniem uważam, że przedstawiona do oceny rozprawa doktorska spełnia warunki określone w art. 13 Ustawy z dnia 14 marca 2003 roku o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki” (Dz. U. z 2003 r. Nr 65, poz. 595, z późniejszymi zmianami) i przedkładam Wysokiej Radzie Dyscypliny Nauki biologiczne Uniwersytetu Jagiellońskiego w Krakowie wniosek o dopuszczenie mgr Laury Pardyak do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Ze względu na wysoką wartość merytoryczną pracy, oryginalność uzyskanych wyników i opublikowanie ich, w większości, w czasopismach o światowym zasięgu uważam, że praca zasługuje na wyróżnienie.

A handwritten signature in blue ink, consisting of a stylized first name followed by a surname, written in a cursive script.