

## OPINIA PROMOTORA

o rozprawie doktorskiej lek. wet. Agnieszki Czujkowskiej pt. **„Ekspresja galaniny oraz jej kolokalizacja z wybranymi związkami biologicznie aktywnymi w układzie nerwowym jelitowym jelita cienkiego dzika”**

Bogaty system neuronów i włókien nerwowych zaopatrujących przełyk, żołądek (przedżołądki u przeżuwaczy), trzustkę, jelito cienkie oraz jelito grube określa się mianem układu nerwowego jelitowego. W swojej budowie oraz pełnionej funkcji układ nerwowy jelitowy może być wyłącznie porównywany do mózgu, stąd czasem w naukowych opracowaniach pojawia się także termin „mózg trzewny”. Budowa układu nerwowego jelitowego ssaków jest powiązana z poszczególnymi odcinkami przewodu pokarmowego.

Szereg funkcjonalnych badań eksperymentalnych wykazało, że to właśnie układ nerwowy jelitowy odpowiada za prawidłowe czynności żołądka i jelit takie jak perystaltyka, sekrecja, wchłanianie, krążenie krwi czy przewodzenie bodźców bólowych. Zestaw substancji biologicznie aktywnych obecnych w poszczególnych neuronach warstwy mięśniowej oraz neuronach podśluzowych układu nerwowego jelitowego determinuje tzw. „kod chemiczny” komórki nerwowej. Oprócz klasycznych neurotransmiterów na kod chemiczny komórki nerwowej składają się także związki o charakterze peptydowym (tzw. neuropeptydy), których rola nie do końca została wyjaśniona. Tym samym precyzując zestaw związków biologicznie

aktywnych obecnych w pojedynczym neuronie z dużą precyzją można określić jego charakter oraz jego funkcję. Jednak co istotne kod chemiczny może się różnić nie tylko w obrębie odcinków przewodu pokarmowego, ale może być także zmienny gatunkowo. W regulacji czynności żołądka i jelit szczególne miejsce i rolę znajduje galanina działająca poprzez trzy swoiste receptory metabotropowe (GAL-R1, GAL-R2 oraz GAL-R3). Badania funkcjonalne wykazały, że galanina pełni szereg kluczowych funkcji regulujących.

Wiedza o budowie układu nerwowego jelitowego ssaków oraz profilu biochemicznym neuronów ENS jest kluczowa do dalszych badań o charakterze funkcjonalnym. Dodatkowo wiedza o strukturze i kodzie chemicznym neuronów układu nerwowego jelitowego zwierząt dziko żyjących jest szczątkowa. Celem badań podjętych przez doktorantkę była analiza stopnia ekspresji galaniny w neuronach oraz włóknach nerwowych jelita cienkiego dzika (dwunastnicy, jelita czczego oraz jelita biodrowego). Ponadto doktorantka badała przy zastosowaniu nowoczesnych technik immunohistochemicznych ko-ekspresję substancji biologicznie aktywnych w galanino-pozytywnych neuronach i włóknach nerwowych zaopatrujących poszczególne histologiczne części jelita cienkiego dzika (warstwę mięśniową, zwoje warstwy mięśniowej, warstwę podśluzową, zwoje podśluzowe oraz warstwę śluzową). W badaniach zastosowano swoiste gatunkowo przeciwciała mono- i poliklonalne skierowane przeciwko dobranym substancjom biologicznie aktywnym. Do identyfikacji neuronów ENS jelita cienkiego dzika doktorantka wykorzystwała specyficzny marker neuronalny, w postaci mysich przeciwciał skierowane przeciwko proteinom Hu C/D, które skoniugowała z przeciwciałami anti-galanina pozyskanymi od królików lub świnek morskich. W dalszym etapie doktorantka wykonała podwójne barwienia IHC w których odpowiednie przeciwciała anti-galanina zostały skoniugowane z odmiennymi gatunkowo surowicami skierowanymi przeciwko wazoaktywnemu polipeptydowi jelitowemu (VIP), peptydowi kodowanemu genem

kalcytoniny (CGRP), substancji P (SP), neuropeptydowi Y (NPY), czynnikowi uwalniającym kortykotropinę (CRF), serotoninie, kalbindynie oraz syntetazie tlenku azotu (NOS).

Dysertacja liczy ogółem 111 stron w tym 11 wysokiej klasy kolorowych mikrofotografii, 2 tabele, oraz streszczenie w języku polskim i języku angielskim. Pracę kończy 6 wniosków oraz wykaz aż 227 pozycji wyjątkowo starannie dobrane i aktualnego piśmiennictwa. Układ pracy jest zgodny z ogólnymi wymogami stawianymi pracom naukowym wykonywanym na stopień doktora nauk weterynaryjnych. Praca jest poprawnie przygotowana, napisana przejrzystym językiem i stanowi samodzielne i oryginalne opracowanie doktorantki. Rozprawa doktorska zawiera dokładny przegląd piśmiennictwa, w którym doktorantka przedstawia aktualny stan wiedzy dotyczącej roli i ekspresji galaniny zarówno w jelitowym, centralnym jak i obwodowym układzie nerwowym. W mojej ocenie jest to poprawna analiza piśmiennictwa będącego inspiracją do podjęcia badań objętych tematem zrealizowanej pracy doktorskiej. Cele badań zostały jasno sformułowane. Rozdział poświęcony metodyce zawiera szczegółową charakterystykę wykonywanych badań. Dobrane nowoczesne techniki badawcze są obecnie obowiązującymi w naukach morfologicznych wobec czego nie budzą jakichkolwiek wątpliwości. Badaniami objęto reprezentatywną grupę zwierząt, próbki pobrano i opracowano w sposób prawidłowy. Uzyskane przez doktorantkę wyniki zostały przedstawione na 23 stronach maszynopisu i opatrzone wysokiej jakości barwnymi mikrofotografiami uzyskanym przy użyciu mikroskopu semi-konfokalnego. W rozdziale „Dyskusja” doktoranta wykazała dużą znajomość podjętej w pracy problematyki badawczej. Swobodnie konfrontuje uzyskane wyniki badań z najnowszymi danymi piśmiennictwa, precyzyjnie a zarazem wielostronnie ustosunkowuje się do analizowanej problematyki badawczej w kontekście uzyskanych wyników. Uzyskane wyniki pozwoliły autorce na wyciągnięcie sześciu wniosków obejmujących całość zagadnień zawartych w pracy.

Lek. wet. Agnieszka Czujkowska zrealizowała założenia pracy zgodnie z planem zatwierdzonym przez Radę Wydziału Medycyny Weterynaryjnej w Lublinie w dniu 29 marca

2012 roku. Stwierdzam, że rozprawa doktorska pt.:” Ekspresja galaniny oraz jej kolokalizacja z wybranymi związkami biologicznie aktywnymi w układzie nerwowym jelitowym jelita cienkiego dzika” wnosi istotne elementy poznawcze dotyczące ekspresji galaniny w układzie nerwowym jelitowym jelita cienkiego dzika i potencjalnego znaczenia tego neuropeptydu dla prawidłowego funkcjonowania jelita cienkiego. Dysertacja spełnia wymogi określone w art.13 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, z późn. zm.). Powyższe stwierdzenie upoważnia mnie do przedłożenia Wysokiej Radzie Wydziału Medycyny Weterynaryjnej UP w Lublinie wniosku o dopuszczenie lek. wet. Agnieszki Czujkowskiej do dalszych etapów przewodu doktorskiego.