

Prof. dr hab. Hanna Jackowiak
Pracownia Histologii i Embriologii
Wydział Medycyny Weterynaryjnej i Nauk o Zwierzętach
Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu

Poznań 25-01-2021

RECENZJA ROZPRAWY DOKTORSKIEJ

Pani mgr Lidii Sonakowskiej – Czajka

pt. „Struktura i ultrastruktura nabłonka jelita środkowego dorosłych i larwalnych osobników słodkowodnej krewetki *Neocaridina heteropoda* (Crustacea, Malacostraca) z uwzględnieniem procesów regeneracji i degeneracji”

wykonanej pod kierunkiem promotora Pani prof. dr hab. Magdaleny Rost-Roszkowskiej

Ogólna ocena rozprawy

Badania układu pokarmowego bezkręgowców, w tym skorupiaków i owadów ze względów metodologicznych przeżywają w obecnym czasie niewątpliwy renesans. Wcześniejsze, klasyczne obserwacje strukturalne są obecnie pogłębiane w oparciu o nowoczesne techniki wizualizacji mikro-i ultrastruktur. To pozwala na dokonanie funkcjonalnych analiz przemian nabłonków i ich wyspecjalizowanych komórek, charakterystykę dynamiki procesów odnowy nabłonkowej i regresji komórkowej, a także w nieinwazyjny sposób charakteryzuje rozwój struktur larwalnych. Wybór tematu rozprawy i zakres badań uważam za ciekawy i metodologicznie zgodny z istniejącymi tendencjami badań mikroskopowych. Interesującym aspektem poznawczym przedsięwziętych badań jest opisanie nowych wątków, które wpisują się – jak wynika z cytowanej literatury - w bieżące i szeroko dyskutowane problemy naukowe, dotyczące procesów odnowy nabłonkowej i form procesów degeneracji.

Charakterystyka rozprawy

Przedstawiona do recenzji rozprawa doktorska autorstwa mgr Lidii Sonakowskiej-Czajka została przygotowana jako tematycznie spójny cykl trzech pierwszoautorskich oryginalnych rozpraw naukowych, które zostały opublikowane w renomowanych czasopismach z listy JCR.

Na cykl składają się następujące rozprawy naukowe:

1. Sonakowska L., Włodarczyk A., Poprawa I., Binkowski M., Śróbka J., Kamińska K., Rost-Roszkowska M. 2015 Structure and ultrastructure of the endodermal region of the alimentary tract in the freshwater shrimp *Neocaridina heteropoda* (Crustacea, Malacostraca). PloS One

2. Sonakowska L., Włodarczyk A., Wilczek P., Student S., Rost – Roszkowska M.M. 2016: Cell death in the epithelia of the intestine and hepatopancreas in *Neocaridina heteropoda* (Crustacea, Malacostraca). PloS One.

3. Sonakowska-Czajka L., Śróbka J., Ostróżka A., Rost-Roszkowska M. 2020: Postembryonic development and differentiation of the midgut in the freshwater shrimp *Neocaridina davidi* (Crustacea, Malacostraca, Decapoda) larvae. Journal of Morphology

Wymienione rozprawy zostały opublikowane w czasopismach o punktacji równej 100 i wartościami IF wahającymi się między 1,580 a 2,740 (sumaryczny IF= 7,06). Dwie pierwsze prace były cytowane odpowiednio 21 i 24 razy, co świadczy o wadze podejmowanych problemów naukowych i znaczeniu dla środowiska naukowego. Ostatnia praca dotycząca procesów morfogenezy jelita środkowego krewetek, która ukazała się w ubiegłym roku nie ma jeszcze cytowań. Wiodący udział autorski Pani mgr Lidii Sonakowskiej – Czajka we wszystkich wymienionych wyżej rozprawach naukowych – choć niestety nie określony procentowo - uznali wszyscy współautorzy w dołączonych do rozprawy stosownych oświadczeniach.

Ocena merytoryczna

Przedłożona rozprawa doktorska formalnie zawiera 31 stron autoreferatu ze streszczeniami w języku polskim i angielskim oraz wydruki trzech anglojęzycznych rozpraw naukowych. Autoreferat obejmuje sześć klasycznych rozdziałów tj. „Wstęp”, „Cele pracy”, „Materiał i Metody”, „Wyniki i Dyskusja”, „Wnioski”, „Literatura” z wykazem 47 artykułów, po których następuje „Streszczenie” w języku polskim i angielskim oraz „Wykaz publikacji naukowych wchodzących w skład rozprawy”.

We wstępie Doktorantka przedstawiła wybór obiektu badań tj. jelita środkowego i wątrobotrzustki krewetki wskazując, że ten endodermalny odcinek jelita o polimorficznej budowie komórkowej, bierze nie tylko udział w licznych procesach związanych z trawieniem, wchłanianiem i magazynowaniem substancji, ale także ma ważne znaczenie w procesach utrzymania jego homeostazy. Badania przeprowadzono osobników *Neocardina davidii*, gatunku należącego do pancierzowców, który jest bezkręgowcem utrzymywanym w hodowlach akwarystycznych i laboratoryjnych oraz u jego form larwalnych (*stadium zoea I i zoea III*). Autorka w przekonujący sposób, odnosząc się do danych z literatury naukowej, przedstawiła wagę podejmowanych badań nad mikro- i ultrastrukturą jelita środkowego wybranego gatunku krewetki, wskazując na istotność i złożoność badań nad procesami różnicowania nabłonka jelita,

jak i wartość badań nad procesami regulującymi zachodzącymi z nabłonku jelita obejmującymi trzy rodzaje śmierci komórkowej.

W kolejnym rozdziale manuskryptu przedstawiono jasno sformułowane cele badawcze zebrane w dziewięciu punktach, wskazujące zakres badań mikro- i ultrastrukturalnych, jak i użyty oryginalny, dobrze dobrany zestaw technik i metod badawczych, które obok obserwacji strukturalnych miały umożliwić śledzenie procesów zachodzących w jelicie środkowym *Neocardina davidii*.

W rozdziale „Materiał i metody” mgr Sonakowska - Czajka opisała szczegółowo hodowle osobników dorosłych i larwalnych i zamieściła informację o zmianie nazwy łacińskiej badanej krewetki z dawnej, używanej w dwóch pierwszych publikacjach cyklu doktorskiego *Neocardina heteropoda* na obecnie używaną nazwę *Neocaridina davidii*. Kolejno scharakteryzowała liczne metody w obrębie technik mikroskopowych obejmujących mikroskopię świetlną, w tym m. fluorescencyjną, mikroskopię skaningową laserową (konfokalną) oraz mikroskopię elektronową transmisyjną, a także rentgenowską mikrotomografię komputerową.

W mojej opinii, na podkreślenie zasługują badania wykonane metodami z użyciem znaczników proliferujących komórek określających autofagosomy i autolizosomy, dalej metodami umożliwiającymi ocenę potencjału wewnętrznej błony mitochondriów. Ciekawe i innowacyjne, w skali badań układu pokarmowego skorupiaków, było zastosowanie mikrotomografii rentgenowskiej do obserwacji topografii jelita środkowego u osobników dorosły i larw krewetki, znacząco pogłębiające, z reguły dwuwymiarowe, obserwacje strukturalne. Opis prowadzonej hodowli, liczba badanych osobników dorosłych, jak i larwalnych oraz opis używanych procedur przygotowania tkanek do badań i obserwacji są precyzyjne i nie budząc wątpliwości, świadczą o wysokich umiejętnościach Doktorantki. Należy podkreślić, że na część z wymienionych badań Autorka rozprawy doktorskiej uzyskała finansowanie z grantu NCN Preludium i grantu EU „Synthesis”.

W rozdziale „Wyniki i dyskusja” obejmującym 7 stron maszynopisu znajdujemy skrupulatny opis osiągniętych wyników badań w źródłowych publikacji. Jednakże dopiero z lektury oryginalnych rozpraw wynika jasno, że podjęte badania ze względu na wartość poznawczą, wpisują się w aktualnie prowadzone dyskusje na arenie międzynarodowej o procesach odbywających się w jelicie środkowym skorupiaków.

Dodane do „Autoreferatu” wydruki oryginalnych rozpraw naukowych zostały wcześniej poddane procedurze oceny *peer review* przez każde z uznanych czasopism, dopuszczających do

publikacji. Fakt ten wskazuje także na oryginalność podjętych badań i ich bardzo dobry poziom merytoryczny, który oparty jest na świetnie przygotowanej dokumentacji naukowej

Badania zawarte w pierwszej wskazanej publikacji „Structure and ultrastructure of the endodermal region of the alimentary tract in the freshwater shrimp *Neocaridina heteropoda* (Crustacea, Malacostraca) opisują klasyczną budowę nabłonka jelita i wątrobotrzustki z charakterystyką poszczególnych typów komórek (komórki D i E oraz, F, B, E) i ich unikalnych funkcji. Praca ta stanowi postawę prezentowanej rozprawy doktorskiej i zarazem źródłem do dalszych badań. Przedstawiając najważniejsze wyniki Doktorantka konfrontuje je z wynikami prac dotyczącymi innych skorupiaków, co przesądza, czy cechy te np. skład komórkowy nabłonka badanych narządów, są podobne lub/i specyficzne gatunkowo. Podano także krytyczne sugestie, które z wątków należałoby rozszerzyć, czy wyjaśnić w dalszych badaniach. Co prawda, mam pewien niedosyt dotyczący skromnych wątków dyskusji wyników zawartej w Autoreferacie, ale analiza bardzo dobrze opracowanych treści w części „Discussion” we wszystkich oryginalnych wersjach rozpraw przekonuje o szerokiej wiedzy Autorki i znajomości bieżącej literatury naukowej.

W kolejnej rozprawie naukowej pt: “Cell death in the epithelia of the intestine and hepatopancreas in *Neocaridina heteropoda* (Crustacea, Malacostraca) scharakteryzowano procesy odnowy nabłonkowej i degeneracji komórkowej w jelicie oraz wskazano, iż z trzech form śmierci komórkowej (autofagii, apoptozy i nekrozy), najczęstszym typem śmierci komórkowej w nabłonku jelita środkowego jest autofagia w komórkach trawiennych, a w mniejszej częstości w komórkach F i B. Ciekawym wynikiem, dotyczącym procesu autofagii, jest określenie aktywności mitochondriów i w dalszej perspektywie konkretne wskazanie przebiegu mitofagii.

W trzeciej i ostatniej z kolei rozprawie cyklu pt. “Postembryonic development and differentiation of the midgut in the freshwater shrimp *Neocaridina davidi* (Crustacea, Malacostraca, Decapoda) larvae” dominuje tematyka rozwoju jelita środkowego, ale i wątrobotrzustki badanych krewetek. Unikalne wyniki badań prowadzone w dwóch stadiach rozwojowych wskazały na podobieństwa zarówno w lokalizacji jelita środkowego, jak i ogólnej budowy nabłonka jelita. Jednakże dalsze, pogłębione analizy ultrastrukturalne wskazały m.in. na zmienną aktywność mitotyczną komórek nabłonka jelita oraz ustaliły czas podjęcia aktywności trawiennej. Ponadto scharakteryzowano odmienne typy śmierci komórkowej w I i w III stadium larwalnym, co po raz pierwszy dokumentuje stopniowe dojrzewanie funkcjonalne mikrostruktur jelita środkowego krewetki.

W podsumowaniu „Autoreferatu” mgr Lidia Sonakowska - Czajka sformułowała na podstawie wielu różnorodnych wyników badań 13 wniosków zarówno natury ogólnej, jak i bardzo szczegółowych, które są spójne z zamierzonymi celami badawczymi. Nieco szkoda, że dość prosty styl wniosków nie odzwierciedla precyzyjnie wypracowanych sformułowań podsumowujących badania, a zawartych, choćby w streszczeniach dołączonych anglojęzycznych rozpraw.

Autoreferat jest napisany starannie i poprawnym językiem polskim, przejrzysto prezentując dokonania Autorki. Uwagę zwraca jakość wydruku i prezentacja rozpraw naukowych, co jest niezwykle ważne przy tak obfitej i bardzo dobrze przygotowanej dokumentacji fotograficznej lub ilustracyjnej w postaci schematów i tabel. Z obowiązku recenzenta chciałabym wskazać drobne błędy w edycji tekstu polegające na niezgodności numeracji rozdziałów autoreferatu wskazanych na stronie 1, gdyż na kolejnych stronach znajdujemy dwa pierwsze rozdziały z numerami 1., jak również nieumieszczenie pełnej listy nazwisk współautorów w pierwszej publikacji z 2015 roku w wykazie publikacji na stronie 31.

Wniosek końcowy

Cykl publikacji, będący podstawą rozprawy doktorskiej mgr Lidii Sonakowskiej - Czajka, wskazuje na konsekwentny, dobrze zaplanowany ciąg badań mikro- i ultrastrukturalnych nabłonka jelita środkowego u osobników dorosłych i larwalnych krewetki *Neocaridina davidii*, wyjaśniający funkcjonalne i rozwojowe aspekty budowy mikro- i ultrastrukturalnej. Zawarte w rozprawie opisy i wnioski są logiczne i merytorycznie poprawne, co przy dużej ilości przeprowadzonych badań eksperymentalnych, świadczy o dojrzałości naukowej i bardzo dobrym przygotowaniu teoretycznym Doktorantki. Podkreślić należy, że zastosowanie techniki i metody badawcze mają w dużej mierze charakter innowacyjny w obszarze badań nad mikro- i ultrastrukturami układu pokarmowego bezkręgowców.

Przedłożoną do recenzji rozprawa doktorska autorstwa pani mgr Lidii Sonakowskiej-Czajka pt. „Struktura i ultrastruktura nabłonka jelita środkowego dorosłych i larwalnych osobników słodkowodnej krewetki *Neocaridina heteropoda* (Crustacea, Malacostraca) z uwzględnieniem procesów regeneracji i degeneracji” oceniam pozytywnie. Rozprawa ta jest istotna poznawczo, poszerzając wiedzę o biologii skorupiaków, a uzyskane wyniki mogą być

przydatne w praktyce hodowlanej, czy w dalszej perspektywie użyteczne w związku pojawiającymi się problemami zasiedlania zbiorników wodnych.

Tym samym rozprawa spełnia warunki wymagane Ustawą z dnia 14.03.2003 roku o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. Nr 65, poz.595), z późniejszymi zmianami z dnia 18.03.2011 roku (Dz. U. Nr 84, poz.455), w związku z art. 179 ust.1 Ustawy z dnia 3 lipca 2018 r. (Dz. U. poz. 1669) i wnioskuję o jej dopuszczenie do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Jednocześnie wnoszę do Rady Naukowej Dyscypliny Biologia Wydziału Nauk Przyrodniczych Uniwersytetu Śląskiego w Katowicach o dopuszczenie Pani mgr Pani Lidii Sonakowskiej - Czajka do dalszych etapów postępowania doktorskiego.

Z uwagi na wysoką wartość naukową rozprawy doktorskiej wnioskuję o jej wyróżnienie stosowną nagrodą.

