



instytut biologii doświadczalnej
im. M. Nenckiego PAN

Prof. dr hab. Julita Czarkowska-Bauch
Zakład Neurofizjologii

Ul. Pasteura 3, 02-093 Warszawa
j.czarkowska@nencki.gov.pl
tel. 22 58 92 438

Warszawa, 15 lutego 2013 r.

OCENA ROZPRAWY HABILITACYJNEJ ORAZ DOROBKU NAUKOWEGO DOKTORA KRZYSZTOFA CZAJA

OCENA ROZPRAWY HABILITACYJNEJ ZATYTUŁOWANEJ: „Procesy degeneracyjne i regeneracyjne po uszkodzeniu bezmielinowych neuronów czuciowych unerwiających narządy przewodu pokarmowego”

Przedstawiona do recenzji rozprawa habilitacyjna wywodzi się ze zbioru pięciu, spójnych tematycznie publikacji doświadczalnych z lat 2006-2011, na podstawie których habilitant przygotował krótki autoreferat w języku polskim i angielskim omawiający główne tezy rozprawy habilitacyjnej. Wszystkie pięć publikacji to opracowania oryginalne. Publikacje będące przedmiotem rozprawy mają charakter prac współautorskich o liczbie autorów od trzech do pięciu i we wszystkich publikacjach dr Czaja jest korespondującym autorem.

Dr Czaja dołączył do dokumentacji oświadczenia wszystkich sześciorga współautorów, którzy zgodnie potwierdzają wiodącą rolę dr Czai w badaniach przedstawionych w załączonych publikacjach. Prace badawcze będące przedmiotem rozprawy habilitacyjnej zostały opublikowane w dobrych czasopismach: *Journal of Comparative Neurology* (2 publikacje), *Neuroscience* (2 publikacje), *Frontiers in Neuroscience* (1 publikacja – brak danych co do IF- stosunkowo młode czasopismo). Sumaryczny „współczynnik oddziaływania” (IF) prac opublikowanych w czterech pierwszych czasopismach wynosi w 14.376, a sumaryczna liczba cytowań tych publikacji wynosi 40.

Przedmiotem habilitacji były badania, których celem było scharakteryzowanie, pod względem morfologicznym i neurochemicznym, neuronów czuciowych zlokalizowanych w zwoju węzłowym nerwu błędnego, unerwiających narządy przewodu pokarmowego oraz zbadanie odpowiedzi tych neuronów na uszkodzenia. Badania te zostały wykonane w całości poza Polską. Tematyka badawcza dr. Czai wpisuje się w ważne poznawczo

zagadnienia neurogenezy u dorosłych osobników i jej skuteczności w przywracaniu funkcji utraconych na skutek uszkodzeń układu nerwowego.

Wszystkie publikacje przedstawione w ramach rozprawy habilitacyjnej cechują znaczące walory naukowe. Cykl rozpoczyna praca opublikowana w JCN (2006) [4.1], w której autor, za pomocą metod immunohistochemicznych, określa liczebność i fenotyp neuronów czuciowych w zwojach węzłowych dorosłego szczura, które będą przedmiotem dalszych, szeroko zakrojonych badań. Porównuje on poziomy ekspresji różnych podjednostek receptora NMDA w neuronach badanych zwojów i wykazuje, że najbardziej rozpowszechniona jest w nich jednostka NR1. Kolejne cztery publikacje dotyczą badań skutków uszkodzenia neuronów czuciowych w zwojach węzłowych za pomocą podawanej dootrzewnowo kapsaicyny, która wiążąc się z receptorem waniloidowym (VR1) może działać neurotoksycznie powodując degenerację cienkich, bezosłonkowych włókien czuciowych, bogatych w te receptory, i śmierć neuronów. W ciekawej pracy opublikowanej w Neuroscience (2008) [4.2] habilitant wykazuje, że 30 dni po podaniu kapsaicyny dochodzi do śmierci ok. 50% neuronów czuciowych w zwojach węzłowych (wykazanej metodą TUNEL i badaniem ekspresji kaspazy 3), ale już po 60 dniach liczba neuronów zbliża się do wartości kontrolnych. Stosując znaczniki proliferacji i identyfikacji neuronalnego fenotypu proliferujących komórek habilitant wykazał, że w zwojach węzłowych dorosłych szczurów, uszkodzonych wskutek działania kapsaicyny, dochodzi do neurogenezy. To ważne odkrycie stało się przedmiotem dalszych badań dr Czai nad skutecznością procesu neurogenezy oraz porównaniem przebiegu procesów kompensacyjnych zachodzących po podaniu kapsaicyny i po podoponowym przecięciu gałęzi czuciowej nerwu błędnego unerwiającej żołądek [4.3 i 4.4]. Dr Czaja wykazał w nich częściową odwracalność zmniejszenia, przez działanie kapsaicyny, unerwienia żołądka, a także zdolność do utrzymywania przeduszkodzeniowego fenotypu regenerujących włókien czuciowych typu C. W porównaniu z konsekwencjami przecięcia gałęzi nerwu błędnego, po podaniu kapsaicyny przebieg procesów naprawczych jest znacznie lepszy, przypuszczalnie dlatego, że uszkodzeniu ulega w tym przypadku tylko ok. 50 % neuronów. Habilitant sugeruje, że kompensacyjny *sprouting* niewrażliwych na kapsaicynę, ocalałych włókien czuciowych mógł się przyczynić do skuteczniejszego przebiegu procesów naprawczych, niż to ma miejsce po przecięciu nerwu błędnego. Ponadto habilitant rozważa możliwość, że nowopowstałe neurony, które stanowiły ponad 10 % proliferujących komórek, mogły pozytywnie wpłynąć na procesy naprawcze. W ostatniej z przedstawionych publikacji [4.5] habilitant dokonuje rekapitulacji wcześniejszych wyników wydłużając czas obserwacji do 300 dni i wykazuje, że po tym

czasie liczba neuronów w zwojach węzłowych wraca do normy. Równocześnie, wykorzystując model uszkodzenia neuronów czuciowych w tych zwojach za pomocą kapsaicyny, stara się odpowiedzieć na pytanie o wpływ tego uszkodzenia na neurony ośrodkowe jądra pasma samotnego, unerwiane przez wypustki neuronów czuciowych zwojów węzłowych. Habilitant wykazuje, że konsekwencją uszkodzenia neuronów zwojów węzłowych jest spadek liczebności synaps na neuronach jąder pasma samotnego oceniany na podstawie obniżenia ekspresji synaptofizyny. Jest to proces odwracalny i liczebność synaps wraca do normy po 300 dniach od podania kapsaicyny. Dr Czaja podejmuje również próbę odpowiedzi na pytanie czy odwracalność tego procesu przekłada się na przywracanie funkcji uszkodzanego unerwienia. Wykorzystał w tych badaniach reakcję na podanie hormonu sytości (cholecystokininy) szczurom, które poddano działaniu kapsaicyny 30 lub 300 dni wcześniej i wykazał, że we wczesnym okresie efekt podania hormonu był pomijalny, ale po 300 dniach u ok. 50 % badanych zwierząt zaobserwowano obniżenie się ilości pobieranego pokarmu, co może wskazywać na przywracanie funkcji kontrolowanej przez ośrodkową część czuciowego unerwienia żołądka.

Podsumowując, należy stwierdzić, że dr Czaja w wysokim stopniu opanował metody biochemiczne i immunohistochemiczne, a przedstawione publikacje wskazują, że jest on w pełni samodzielnym naukowcem, zadającym ważne pytania badawcze.

2. OCENA DOROBKU NAUKOWEGO ORAZ DYDAKTYCZNEGO DR. CZAJA

Dr Czaja ukończył studia na Wydziale Weterynaryjnym Akademii Rolniczo-Technicznej w Olsztynie i w 1993 r. uzyskał tytuł lekarza weterynarii. Po ukończeniu studiów został on zatrudniony na Wydziale Medycyny Weterynaryjnej macierzystej uczelni jako asystent. Tam też wykonał, pod kierunkiem dr hab. Mirosława Łakomego, pracę doktorską pt. „*Lokalizacja i immunohistochemiczna charakterystyka neuronów unerwiających jajowód świni*” i uzyskał w 1997 r. stopień doktora nauk weterynaryjnych w zakresie neuroanatomii. Dr Czaja został wyróżniony w 1997r. nagrodą Rektora Akademii Rolniczo-Technicznej, a w 1998 r. nagrodą Premiera za wybitną rozprawę doktorską. Po uzyskaniu stopnia doktora dr Czaja kontynuuje pracę w macierzystej uczelni (od 1998 r. Uniwersytet Mazursko-Warmiński), na Wydziale Medycyny Weterynaryjnej jako adiunkt, a w 2004 wyjeżdża na długoterminowy staż do Washington State University, Pullman U.S.A., gdzie pracuje dotychczas na Wydziale Porównawczej Anatomii Weterynaryjnej, obecnie na stanowisku *assistant professor*. Podczas stażu doskonali i rozszerza znajomość metod immunohistochemicznych i biochemicznych.

Dorobek naukowy dr. Czai obejmuje w sumie 39 oryginalnych publikacji doświadczalnych, z których wyodrębniono 5 stanowiących przedmiot habilitacji. Ponadto jest on autorem lub współautorem 3 publikacji przeglądowych, opublikowanych w anglojęzycznych czasopismach. Jedna z nich (Int. Rev. Neurobiol. 2009) jest stosunkowo często cytowana (30 razy). Habilitant jest także autorem 73 komunikatów konferencyjnych. Dr Czaja publikuje w czasopismach anglojęzycznych, zagranicznych i krajowych. Poza omawianymi w ramach oceny samej rozprawy habilitacyjnej są w jego dorobku publikacje w *Neurosci. Letters* (3), *Folia Morphol.* (6), *Folia Histochem. Cytobiol.* (5), *Biochem Biophys. Res. Commun.* (3), *Pol J Vet Sci.* (3), *Veterinarni Medicina* (2) oraz pojedyncze publikacje w *Acta Anatom.*, *Acta Neurobiol. Exp.*, *Am. J Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.*, *Brain Res.*, *Cell Tissue Organs*, *Cell Tissue Res.*, i *Czech J Animal Sci. Domest Animal Endocrinol.* Ponadto w 2012 r ukazały się trzy prace z udziałem dr Czai (nie włączone do spisu publikacji w materiałach przewodu habilitacyjnego). Są to publikacje w czasopismach : *PNAS*, *Neurosci. Lett.*, *Endocrinology*, o sumarycznym IF=16,2. Na szczególną uwagę zasługuje praca opublikowana w *Endocrinology*, stanowiąca ciekawe rozwinięcie prowadzonych przez habilitanta badań. Tematyka badawcza habilitanta jest spójna i w ostatnich 10 latach koncentruje się na badaniach pouszkodzeniowej plastyczności neuronów i gleju w obwodowym i ośrodkowym układzie nerwowym.

Według informacji przedstawionych przez habilitanta i, jak sędzę, obliczonych zgodnie z Rozporządzeniem MNiSW z 1 września 2011r., sumaryczna liczba cytowań publikacji, których jest on współautorem lub autorem wynosi 282 (nie podano czy razem z autocytacjami) , wskaźnik Hirscha wynosi 9, a sumaryczny IF prac wynosi 69.8 (po włączeniu przez mnie IF 3 publikacji z 2012 r. nie ujętych w spisie).

Podsumowując, dorobek naukowy dr. Krzysztofa Czai oceniam wysoko i w moim przekonaniu jest on wystarczający do uzyskania stopnia naukowego doktora habilitowanego.

Dorobek dydaktyczny habilitanta jest bogaty, co jest związane z jego pracą w krajowej i zagranicznej wyższej uczelni (w Akademii Rolniczo-Technicznej, Uniwersytecie Mazursko-Warmińskim w Olsztynie, w Washington State University w Pullman, U.S.A). Podczas pracy w Akademii Rolniczo-Technicznej, a potem na Uniwersytecie Mazursko-Warmińskim w Olsztynie prowadził od początku ćwiczenia ze studentami, a później wykłady w zakresie anatomii zwierząt domowych, anatomii porównawczej zwierząt i anatomii klinicznej. Sprawował też opiekę naukową nad studentami i opiekę nad Kołem Naukowym Anatomów.

Prowadził i prowadzi liczne zajęcia ze studentami podczas pracy w Washington State University w Pullman, U.S.A., w zakresie anatomii zwierząt, neuroanatomii i technik laboratoryjnych. Tam też był opiekunem naukowym 8 prac licencjackich, pracy magisterskiej, promotorem pomocniczym (1) i promotorem (1) obronionych prac doktorskich i jest opiekunem 3 kolejnych prac doktorskich.

Dr Czaja wymienia 7 projektów badawczych, w których uczestniczył lub uczestniczy, ale brak jest informacji nt roli, jaką w tych grantach pełnił/pełni. W okresie pracy w Polsce był to projekt KBN 6P06KO1220 (2001-2003) i grant NATO SF2002 (2002-2003). Natomiast podczas pracy w Stanach były to następujące granty: Bank of America Poncin Scholarship Fund (2006-2007); WSU New Faculty Seed Grant Program [110252] (2008-2009); George W. Barby Research Gift Fund FY 2010-2011; oraz dwa granty, które są w toku: NIH/DDKD [R01 DK052849] (2008-2013) oraz UDDA AFRI [2010-032443] (2010-2014).

Dr Czaja jest członkiem Rady Redakcyjnej w czasopiśmie Neural Regeneration Research, a także recenzentem w czasopismach Neuroscience, Neuroscience Letters, Journal of Animal Science i Acta Neurobiologiae Experimentalis. Był też członkiem komitetu do oceny projektów badawczych w Auburn University.

Trzykrotnie był zaproszony do wygłoszenia referatów na Uniwersytetach Amerykańskich (2) i Włoskim. Podczas pracy w Polsce habilitant trzykrotnie organizował międzynarodowe konferencje naukowe (1997, 2000, 2002)

Poza wspomnianymi dwiema nagrodami za wybitną rozprawę doktorską, dr Czaja otrzymał też Nagrodę Olsztyńskiego Forum Naukowego (1999), USDA Award for Polish-American Science Promotion, GA, U.S.A. (1999) i WSU Honors College „Mentor of the Year” (2009).

WNIOSEK KOŃCOWY

Podsumowując moją ocenę rozprawy habilitacyjnej i działalności naukowej, wyrażam przekonanie, że dr Krzysztof Czaja spełnia warunki określone stosownymi przepisami, aby stać się samodzielnym pracownikiem naukowym. Pozwalam sobie przedłożyć Radzie Wydziału Lekarskiego z Oddziałem Stomatologii i Oddziałem Nauczania w Języku Angielskim Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku wniosek o dopuszczenie doktora Krzysztofa Czai do dalszych etapów przewodu habilitacyjnego.


Julita Czarkowska-Bauch