

Rzeszów, 10.10.2015

Prof. dr hab. Marek Koziorowski  
Katedra Fizjologii i Rozrodu Zwierząt  
Pozawydziałowy Zamiejscowy Instytut  
Biotechnologii Stosowanej i Nauk Podstawowych  
Uniwersytet Rzeszowski

## OCENA

**rozprawy doktorskiej mgr Małgorzaty Hasiec pt:  
Rola salsolinolu w aktywności układu podwzgórze-przysadka-  
nadnercza u owiec w laktacji**

Przedstawiona do recenzji praca doktorska jest opracowaniem ukazującym rolę salsolinolu jako regulatora procesów fizjologicznych zwierząt w okresie laktacji w obszarze aktywności sekrecyjnej osi podwzgórze-przysadka-nadnercza. Postępujący rozwój nauki poprzez wprowadzanie do praktyki badawczej nowych technik badawczych skutkuje coraz lepszym poznaniem procesów regulacyjnych również w zakresie szeroko pojętej regulacji rozrodu. Laktacja jest ostatnim etapem cyklu rozrodczego u ssaków, a jej prawidłowy przebieg zapewnia prawidłowy rozwój noworodka aż do osiągnięcia etapu rozwoju, kiedy jest zdolny do pobierania, trawienia i wchłaniania pokarmu nie będącego wytworem gruczołu mlekowego. Specyficzna w okresie laktacji regulacja hormonalna zapewnia prawidłową funkcję gruczołu mlekowego. U ssaków jedną z cech charakterystycznych dla laktacji jest obniżenie aktywności osi podwzgórze-przysadka-nadnercza, na co ma wpływ m.in. akt ssania. Ssanie z kolei stymuluje **wzrost stężenia/uwalnianie** salsolinolu w obszarze jądra lejka-wyniosłości pośrodkowej, który jest stymulatorem uwalniania prolaktyny. Udział salsolinolu w regulacji aktywności osi podwzgórze-przysadka-

nadnercza to praktycznie niepoznana tematyka, która jest tematem głównym w rozprawie Doktorantki.

Jako podstawę do ubiegania się o dopuszczenie do dalszych etapów postępowania o nadanie stopnia naukowego doktora PT Autorka przedłożyła manuskrypt zawierający omówienie oryginalnych prac oraz ich kserokopie, w których jest pierwszym autorem:

1. Hasiiec M., Tomaszewska-Zaremba D., Misztal T., Sucling and salsolinol attenuate responsiveness of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis to stress: Focus on catecholamines, corticotrophin releasing hormone, adrenocorticotrophic hormone, cortisol and prolactin secretion in lactating sheep, 2014, Journal of Neuroendocrinology, 26:844-852.

2. Hasiiec M., Herman A.P., Misztal T., Salsolinol: a potential modulator of the activity of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis in nursing and postweaning sheep 2015, Domestic Animal Endocrinology 53: 26-34.

Sumaryczny IF przedłożonych prac wynosi 5,309, a liczba punktów MNiSW: 60.

Indywidualny wkład doktorantki w powstanie zaprezentowanych prac oryginalnych potwierdzony przez współautorów wynosi odpowiednio 60% i 70% (oświadczenia przed publikacjami).

Załączony manuskrypt opracowany w języku polskim, który poprzedza załączone oryginalne prace liczy 52 strony. Zawiera następujące rozdziały: streszczenie, wstęp zawierający bardzo bogatą dyskusję z dotychczasową wiedzą na opracowywany temat, hipotezę badawczą i cele pracy, opis doświadczeń, wyniki, dyskusję, wnioski i bibliografię wyłącznie z czasopism impaktowych. Dodatkowo załączony jest abstrakt w języku angielskim. Manuskrypt napisany jest zrozumiałym językiem z zachowaniem wszystkich wymagań dla opracowań naukowych, co sprawia, że jest "łatwy w czytaniu".

W rozdziale **Wyniki**, Doktorantka skupiła się na przedstawieniu otrzymanych danych. Omówienie wyników i rzeczowa **dyskusja** są przeprowadzone prawidłowo i świadczą o znajomości literatury przedmiotu oraz dojrzałości Doktorantki.

Hipoteza badawcza Pani mgr Małgorzaty Hasiec związana jest z najnowszymi trendami w badaniach nad poznaniem precyzyjnych i złożonych mechanizmów leżących u podłoża regulacji procesów związanych z laktacją. Wiedza ta może mieć kluczowe znaczenie dla rozwoju nowych metod terapeutycznych umożliwiających leczenie zaburzeń laktacji.

Autorka w prezentowanych wynikach badań analizuje słuszność postawionej uprzednio hipotezy badawczej, że **salsolinol jest zaangażowany w regulację podstawowej i indukowanej stresem aktywność osi podwzgórzowo-przysadkowo-nadnerczowej u owcy podczas laktacji.**

Badania wykonane zostały na samicach owcy rasy polskiej długowłnistej. W trakcie badań Autorka zastosowała nowoczesne metody analityczne (PCR, HPLC, RIA) oraz co nie często się zdarza użyła unikalnego modelu doświadczalnego z dwiema kaniulami do III komory i jądra lejka-wyniosłości pośrodkowej (IN/ME). Na podkreślenie zasługuje fakt, że niewiele ośrodków naukowych na świecie potrafi połączyć metody analityki laboratoryjnej z technikami chirurgicznymi. Taki układ doświadczenia trudny w wykonaniu umożliwia pełną realizację założonego celu i jego dogłębną analizę, co zresztą zaskutkowało przyjęciem prac do druku w wysokoimpaktowych czasopismach.

Uzyskane wyniki w pełni potwierdziły prawidłowość przedstawionej przez Autorkę hipotezy badawczej.

Porównanie stężeń ACTH i koryzolu u badanych owiec wykazało, że stres jednoczesnej izolacji od owcy towarzyszącej i własnego jagnięcia jak i izolacji od owcy towarzyszącej powodują podobny wzrost aktywności osi podwzgórze-przysadka-nadnercza (HPA). Wykazano większą reakcję na stres w okresie poodsadzeniowym (8 tygodni), w porównaniu z okresem w 5 tygodniu laktacji. Stężenie CRF w perfuzatach z obszaru jądra lejka-wyniosłości pośrodkowej u owiec w 5 tygodniu laktacji wykazała brak wpływu stresu na jego uwalnianie. Świadczyć to może o udziale wazopresyny w uwalnianiu ACTH, co zostało przedyskutowane w recenzowanej rozprawie. Również pomiary stężenia noradrenaliny i dopaminy w perfuzatach obszaru jądra lejka-wyniosłości pośrodkowej wykazały wzrost ich uwalniania w warunkach stresu w zależności od siły bodźca stresowego. Zaprezentowane wyniki badań są kompleksowo analizowane, a Autorka w dyskusji

przedstawia możliwość interakcji na poziomie ośrodkowego układu nerwowego w zakresie współdziałania CRH i neurotransmiterów.

Dalsze wyniki badań własnych wykazały hamujący wpływ ssania na sekrecję ACTH i kortyzolu w okresie laktacji, ale ssanie nie miało wpływu na stężenie CRH w perfuzatach obszaru jądra lejka-wyniosłości pośredkowej. Z drugiej strony bodziec ssania spowodował istotny wzrost stężenia salsolinolu w perfuzatach obszaru jądra lejka-wyniosłości pośredkowej. Potwierdziło to wcześniejsze badania zespołu, że salsolinol jest uwalniany w OUN pod wpływem ssania. **Do istotnych osiągnięć Doktorantki należy udowodnienie po raz pierwszy, że salsolinol infundowany do III komory mózgu hamuje indukowany stresem wzrost stężenia ACTH i kortyzolu.** Zastosowanie infuzji analogu o właściwościach antagonizujących wobec salsolinolu 1-MeDIQ istotnie obniżyło stężenie dopaminy w obszarze jądra lejka, a owce poddane stresowi miały wyższe stężenie CRH w perfuzatach obszaru jądra lejka-wyniosłości pośredkowej. Wyniki otrzymane przy użyciu tego związku w doświadczeniu 2 sugerują, że salsolinol może regulować także podstawowe uwalnianie ACTH i kortyzolu. Dodatkowo Doktorantka w badaniach własnych wykazała, że w warunkach stresu salsolinol obniża stężenie noradrenaliny w obszarze jądra lejka-wyniosłości pośredkowej. Wskazuje to na możliwość oddziaływania salsolinolu na oś podwzgórze-przysadka-nadnercza poprzez hamowanie aktywności układu noradrenergicznego.

W warunkach fizjologicznych prolaktyna jest wydzielana zarówno w czasie aktu ssania jak i w okresie zadziałania czynników stresowych. Wobec wcześniejszych doniesień że salsolinol może być czynnikiem stymulującym wydzielanie prolaktyny Doktorantka wykazała wzrost stężenia prolaktyny u owiec izolowanych ale w obecności ssącego jagnięcia w odróżnieniu od owiec izolowanych od jagnięcia i owcy towarzyszącej oraz po infuzji u takich owiec salsolinolu. Autorka podsumowuje ten wynik stwierdzeniem, że w warunkach stresu salsolinol nie stymuluje uwalniania prolaktyny, a zatem prolaktyna krążąca we krwi nie może pośredniczyć w hamującym działaniu salsolinolu na uwalnianie ACTH i kortyzolu.

Reasumując - przedstawione do recenzji opracowanie wraz z załączonymi oryginalnymi opublikowanymi pracami stanowią cenny wkład do poznania

mechanizmów włączonych w regulację aktywności sekrecyjnej układu podwzgórze-przysadka-nadnercza u owiec w czasie laktacji.

W ocenianym opracowaniu oraz załączonych pracach Doktorantka wykazała się bardzo dobrym opanowaniem szerokiego warsztatu badawczego, zrozumieniem rozpatrywanych problemów i znajomością piśmiennictwa z zakresu tematyki prowadzonych badań. Na szczególne podkreślenie moim zdaniem zasługuje doskonały wybór tematyki, będący kontynuacją szeroko pojętej problematyki badawczej Instytutu, oraz znajomość światowego piśmiennictwa, który umożliwia szeroką dyskusję w odniesieniu do wybranych zagadnień badawczych. Na podstawie analizy ocenianej rozprawy doktorskiej można przypuszczać, że Doktorantka posiada ważne w pracy badawczej cechy jak pracowitość, solidność i dociekliwość.

## WNIOSEK KOŃCOWY

Przedstawiona do oceny rozprawa doktorska **Pani mgr Małgorzaty Hasiec pt: Rola salsolinolu w aktywności sekrecyjnej układu podwzgórze-przysadka-nadnercza u owiec w laktacji** spełnia wszystkie wymagania – określone w Ustawie z dnia 14 marca 2003 roku o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz.U.Nr 65, poz 59,Dz. U. 2005 nr 164 poz. 1365 oraz Dz.U z 2011r nr 84 poz.455).– stawiane pracom doktorskim i w związku z powyższym zwracam się do Wysokiej Rady Naukowej Instytutu Fizjologii i Żywienia Zwierząt im. Jana Kielanowskiego Polskiej Akademii Nauk w Jabłoncej o dopuszczenie Pani mgr Małgorzaty Hasiec do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Równocześnie pragnę przedłożyć Wysokiej Radzie w pełni uzasadniony, moim zdaniem, wniosek o wyróżnienie pracy.

Dyrektor  
Pozawydziałowego Łaniewskiego  
Instytutu Biotechnologii Stosowanej  
i Nauk Podstawowych  
*prof. dr hab. Marek Koziorowski*