

Wrocław, 30.03.2019 r.

Dr hab. Marcin Jankowski prof. nadzw.  
Katedra Chorób Wewnętrznych z Kliniką Koni, Psów i Kotów  
Wydział Medycyny Weterynaryjnej  
Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu

### **Recenzja rozprawy doktorskiej**

**lek. wet. Anny Malinowskiej pt.: „Ocena bariery naskórkowej strzyków oraz zdolności jej regeneracji po prowokowanym podrażnieniu u bydła mlecznego”.**

Podstawę prawną recenzji stanowi pismo Dziekana Wydziału Medycyny Weterynaryjnej Uniwersytetu Przyrodniczego w Lublinie z dnia 15 marca 2019 r., powołujące się na uchwałę Rady Wydziału Medycyny Weterynaryjnej Uniwersytetu Przyrodniczego w Lublinie z dnia 28 lutego 2019 r. w sprawie wykonania recenzji rozprawy doktorskiej lek. wet. Anny Malinowskiej.

Przedłożona do recenzji rozprawa doktorska lek. wet. Anny Malinowskiej została wykonana w Zakładzie Diagnostyki Klinicznej i Dermatologii Weterynaryjnej Katedry i Kliniki Chorób Wewnętrznych Zwierząt, Wydziału Medycyny Weterynaryjnej, Uniwersytetu Przyrodniczego w Lublinie pod kierunkiem dr hab. Iwony Taszkun, przy współdziałaniu promotora pomocniczego dr n. wet. Piotra Wilkołka.

Zmiany patologiczne krótko- i długoterminowe rozwijające się na skórze strzyków podczas intensywnej eksploatacji udojowej stanowią istotny problem w hodowli bydła mlecznego. Według wielu autorów głównymi czynnikami wpływającymi na stan strzyków są: system doju mechanicznego oraz preparaty wykorzystywane do przed- i poudojowej higieny wymienia. Konsekwencją zaburzeń prawidłowej kondycji strzyków mogą być: zapalenie gruczołu mlekowego oraz spadek wydajności mlecznej, co prowadzi nierzadko do znacznych strat ekonomicznych. Z klinicznego punktu widzenia ważna jest odpowiednia ocena skóry strzyków i zdolności jej

regeneracji oraz opracowanie metod diagnostycznych umożliwiających wczesne rozpoznanie zaburzeń jej prawidłowej kondycji, co w konsekwencji umożliwi podjęcie odpowiednich działań terapeutyczno-profilaktycznych.

W związku z powyższym temat pracy doktorskiej dotyczący oceny bariery naskórkowej strzyków oraz jej zdolności regeneracji po prowokowanym podrażnieniu u bydła mlecznego uważam za aktualny, a podjęcie badań w tym zakresie uzasadnione, zarówno w aspekcie poznawczym, jak i przydatności dla praktyki klinicznej.

Przedstawiona do oceny rozprawa doktorska liczy 103 strony wydruku komputerowego, zawiera 111 pozycji piśmiennictwa, 5 tabel, 78 rycin oraz 8 fotografii. Układ rozprawy doktorskiej jest typowy dla tego rodzaju prac i zawiera: Wstęp, Cel badań, Materiały i metody, Wyniki, Omówienie wyników i dyskusję, Wnioski, Piśmiennictwo, Streszczenie w języku polskim i angielskim oraz Dokumentację fotograficzną. Numeracja poszczególnych rozdziałów i podrozdziałów oraz wykaz stosowanych skrótów poprzedzający „Wstęp” w znakomity sposób ułatwia orientowanie się w dysertacji, a przez to również jej recenzję. Jednak sugeruję, aby spis zastosowanych w pracy skrótów i terminów uzupełnić o następujące skróty: VEGF, NGF, EGF, TGF, AZS, SDS, min., max., gdyż użyto ich w tekście rozprawy doktorskiej, ale nie umieszczono w w/w spisie.

Na początku „Wstępu”, Autorka przybliży czytelnikowi budowę i funkcje naskórka jako bariery ochronnej oraz procesy regeneracyjne zachodzące po jej uszkodzeniu. Jest to niewątpliwie podstawa dla wykonanych przez Autorkę badań. Na szczególną uwagę zasługuje jednak następna część „Wstępu”, w której w bardzo dokładny i jasny sposób opisane zostały metody oceny bariery naskórkowej: subiektywna (wizualna) ocena bariery naskórkowej, obiektywna (pomiarowa) ocena bariery naskórkowej, ze szczególnym uwzględnieniem takich parametrów jak: uwodnienie warstwy rogowej naskórka (EH), przeznaskórkowa utrata wody (TEWL) i odczyn (pH) skóry, eksperymentalne testy *in vivo* stosowane do oceny działania drażniącego na skórę (testy podrażnieniowe mechaniczne i chemiczne) oraz technikę ich wykonania. „Wstęp” kończy opis zagadnień dotyczących przyczyn uszkodzenia skóry strzyków bydła mlecznego podczas użytkowania oraz metod oceny jakościowej skóry strzyków u krów mlecznych. W podrozdziale 3. „Wstępu” w podtytule „Ocena obiektywnej (pomiarowej) bariery naskórkowej” proponuję, aby zmienić kolejność opisu nieinwazyjnych metod badania i: w punkcie **A.** opisać pomiar

uwodnienia naskórka, w punkcie **B.** opisać pomiar przeznaskórkowej utraty wody, a w punkcie **C.** pomiar odczynu skóry, gdyż na początku tego podrozdziału jak i podtytułu właśnie w takiej kolejności te metody są wymieniane. W podrozdziale 4. „Wstępu” proponuję korektę stylistyczną podtytułu na str. 19 na „Technika wykonania testów naskórkowych podrażnieniowych”. Dodatkowo na str. 21 „Wstępu” powtórzono informacje dotyczące TEWL zdrowej skóry człowieka i świni domowej, które przedstawiono już wcześniej na str. 17.

Na podstawie informacji zawartych w tym rozdziale należy stwierdzić, że Doktorantka wykazała się bardzo dobrą znajomością zagadnień związanych z tematem rozprawy doktorskiej. Zawarty we wstępie przegląd piśmiennictwa w pełni stwarza podstawę do sformułowania celów podjętych badań.

Cel badań został sformułowany poprawnie, jasno i zwięźle. Określony został jako trzy cele główne:

1. ocena wybranych parametrów bariery naskórkowej strzyków oraz jej stabilności u zwierząt w różnym wieku i z różnym stopniem uszkodzenia;
2. wykazanie zdolności regeneracji bariery naskórkowej skóry strzyków po eksperymentalnej jednorazowej ekspozycji na bodźce:
  - a. mechaniczne z zastosowaniem podwójnej skaryfikacji naskórka
  - b. chemiczne z użyciem laurylosiarczanu sodowego
  - c. mechaniczne z natychmiastowym użyciem dippingu;
3. przeprowadzenie dynamiki zmian wybranych parametrów bariery naskórkowej strzyków podczas jej odnowy po prowokowanym podrażnieniu mechanicznym, chemicznym oraz mechanicznym z aplikacją miejscową preparatu odkażająco-nawilżającego;

oraz cel dodatkowy: określenie przydatności w praktyce klinicznej badanych parametrów biofizycznych skóry strzyków do wykrywania wczesnych form uszkodzeń skóry.

Proponuję drobną korektę celu 2, który powinien brzmieć: „ocena parametrów bariery naskórkowej takich jak: przeznaskórkowa utrata wody, uwodnienie naskórka i odczyn skóry oraz jej stabilności u zwierząt w różnym wieku i z różnym stopniem uszkodzenia” oraz celu 3, który powinien brzmieć: przeprowadzenie analizy dynamiki parametrów bariery naskórkowej strzyków takich jak: przeznaskórkowa utrata wody, uwodnienie naskórka i odczyn skóry podczas jej odnowy po prowokowanym podrażnieniu mechanicznym, chemicznym oraz mechanicznym z aplikacją

miejscową preparatu odkażająco-nawilżającego”. W opinii recenzenta cel dodatkowy jest bardzo ważny, zwłaszcza w aspekcie klinicznym, dlatego powinien być zakwalifikowany jako czwarty cel główny.

Sposób realizacji postawionych celów pracy opisany został w rozdziale „Materiał i metody”. Badaniami objęto łącznie 72 krowy rasy holsztyno-fryzyjskiej, które podzielono na 2 grupy badawcze. Grupę badawczą A stanowiły 54 krowy, u których badania parametrów biofizycznych skóry dokonano jednorazowo w okresie zimowym. Natomiast grupę badawczą B stanowiło 18 krów, u których badania parametrów biofizycznych skóry dokonano w okresie letnim na skórze strzyku w punkcie kontrolnym (C) i w punktach z podrażnieniem: mechanicznym (MI), chemicznym (CI) i mechanicznym z miejscową aplikacją dippingu (DIP). Należy podkreślić, że część doświadczalna została zaplanowana i wykonana prawidłowo. Zwraca uwagę dokładny opis przeprowadzonych procedur badawczych z wykorzystaniem nowoczesnej aparatury, co wraz z przedstawionymi wynikami nie pozostawia wątpliwości, że Doktorantka bardzo dobrze opanowała warsztat badawczy w zakresie wystarczającym do oceny wyników badań stanowiących cel przedstawionej do oceny rozprawy doktorskiej.

Uważam, że zdanie na str. 27 cyt.: „W przypadku grupy A krów (choć poprawnie powinno być grupy badawczej A), u których pomiaru parametrów biofizycznych skóry dokonano jednorazowo, predippingu i postdippingu nie stosowano przez 24 godziny.”, powinno zostać umieszczone w podtytule charakteryzującym grupę badawczą A. Podobnie zdanie na tej samej stronie cyt.: „Natomiast strzyki krów z grup badanych B (choć poprawnie powinno być grupy badawczej B) były wyłączone z wyżej opisanego protokołu higieny udojowej wymienia na czas trwania doświadczenia.”, powinno zostać umieszczone w podtytule charakteryzującym grupę badawczą B. Dodatkowo opis metod analizy statystycznej uzyskanych wyników warto uzupełnić o określenie poziomu istotności na jakim prowadzone były wykorzystane w pracy testy statystyczne.

Wyniki przeprowadzonych badań przedstawione zostały w formie opisowej, tabelarycznej oraz graficznej w postaci czytelnych wykresów. Doktorantka w szeroki i dogłębny sposób zaprezentowała wyniki badań oraz jasno i zrozumiale przedstawiła wszelkie możliwe korelacje uzyskanych wartości pomiędzy poszczególnymi grupami i podgrupami badawczymi. Świadczy to o bardzo dużym nakładzie pracy jaki wniosła

Ona zarówno w przeprowadzenie części eksperymentalnej, jak i opracowanie wyników badań.

Oceniając rozdział „Wyniki” zwracam uwagę na pewne nieścisłości związane z nazewnictwem. W rozdziale „Materiał i metody” Doktorantka zwierzęta wykorzystane do doświadczenia podzieliła na: **grupę badawczą A** i **grupę badawczą B**. W rozdziale „Wyniki” powinna używać właśnie takich określeń, a nie grypa A lub grupa B (str.: 32, 33, 35, 39, 50, 62 oraz 83 i 86 w rozdziale „Omówienie wyników i dyskusja”). W opinii recenzenta bardziej poprawne jest użycie określenia „istotnie statystycznie wyższa” lub „istotnie statystycznie niższa” zamiast „istotnie wyższa” lub „istotnie niższa” (str.:34, 36, 37, 40, 41, 43, 44, 45, 48, 51, 52, 53, 54, 56, 57, 59, 60, 63, 64, 65, 66, 67, 71). Na str. 38 stwierdzono cyt.: „Uzyskane w badaniach kontrolnych i podgrupach B1, B2 i B3 średnie wartości ( $\bar{x}$ ) i odchylenie standardowe ( $\pm$  SD) oraz wartości min-max badanych parametrów biofizycznych skóry po eksperymentalnym podrażnieniu mechanicznym zamieszczono w Tab. 3.”. W opinii recenzenta zdanie to powinno brzmieć: „Średnie wartości ( $\bar{x}$ ) i odchylenie standardowe ( $\pm$  SD) oraz wartości min.-max. badanych parametrów biofizycznych skóry uzyskane w podgrupach B1, B2 i B3 w punkcie kontrolnym (C) oraz w punkcie po eksperymentalnym podrażnieniu mechanicznym (M1) zamieszczono w Tab. 2 i 3.”. Podobnie zdanie na str. 61 powinno brzmieć: „Średnie wartości ( $\bar{x}$ ) i odchylenie standardowe ( $\pm$  SD) oraz wartości min.-max. badanych parametrów biofizycznych skóry uzyskane w podgrupach B1, B2 i B3 w punkcie kontrolnym (C) oraz w punkcie po eksperymentalnym podrażnieniu mechanicznym i aplikacji miejscowej preparatu lodium TX zamieszczono w Tab. 2 i 5.”.

Lektura rozdziału „Omówienie wyników i dyskusja” wskazuje na dużą znajomość tematu i ogromną wiedzę Autorki, co świadczy przede wszystkim o jej dojrzałości naukowej. Doktorantka umiejętnie, logicznie, a zarazem odważnie dyskutuje nad uzyskanymi wynikami i konfrontuje swoje badania z danymi literaturowymi.

Rozprawę doktorską kończy 6 jasno sformułowanych na podstawie uzyskanych wyników badań wniosków, które dają wyczerpującą odpowiedź na postawione cele i zadania badawcze. Proponuję jedynie drobną korektę stylistyczną wniosku 1, który powinien brzmieć: „Badane parametry biofizyczne skóry takie jak: przesnaskórkowa utrata wody (TEWL), uwodnienie naskórka (EH) i odczyn skóry (pH) są czułymi wskaźnikami stanu bariery naskórkowej strzyków oraz jej stabilności,

a ich wartości zależne są od: wieku krów, stopnia uszkodzenia strzyków i warunków środowiskowych.”

Piśmiennictwo krajowe i zagraniczne wykorzystane w pracy jest aktualne (32% stanowią publikacje z lat 2010 – 2019) i świadczy o doskonałej znajomości opisanej w rozprawie doktorskiej problematyce. W związku z dość dużą ilością pozycji w piśmiennictwie, Autorka nie ustrzegła się jednak pewnych błędów w ich cytowaniu („Wstęp” str.: 7, 8, 9, 11, 12, 13, 20, 22, 23, 24; „Omówienie wyników i dyskusja” str.: 81, 85). W wykazie piśmiennictwa publikacje tych samych autorów i z tego samego roku jak w przypadku: Burmeister i wsp. 1998 oraz Neijenhuis i wsp. 2001 powinny zostać oznaczone literami a i b, i z tymi literami cytowane. Publikacja Yoshihara i wsp. 2007 powinna być wykazana pod nr 109, ponieważ w polskim alfabecie litera „Y” znajduje się przed literą „Z”.

Nie znalazłem w treści rozprawy doktorskiej odnośnika do zdjęcia 4a i 4b z rozdziału ”Dokumentacja fotograficzna”.

Drobne nieścisłości stylistyczne i interpunkcyjne zaznaczono w tekście przedstawionej do oceny dysertacji.

Pracę doktorską lek. wet. Anny Malinowskiej oceniam wysoko. Autorka podjęła badania nad istotnym z naukowego i praktycznego punktu widzenia problemem, realizując postawione cele przy pomocy nowoczesnego i pracochłonnego wachlarza badań. Stanowi ona wartościową i liczącą się pozycją w piśmiennictwie dotyczącym zagadnień związanych z oceną stanu skóry strzyków u krów mlecznych.

Przedstawione uwagi Recenzenta w najmniejszym stopniu nie zmniejszają wartości merytorycznej pracy i z powodzeniem mogą zostać uwzględnione przed jej opublikowaniem.

Reasumując, pragnę podkreślić, że rozprawa doktorska lek. wet. Anny Malinowskiej jest pracą oryginalną o wysokim poziomie naukowym. Doktorantka podjęła interesujący, aktualny i można powiedzieć pionierski temat badawczy, gdyż w takim zakresie badania dotyczące oceny skóry strzyków u bydła mlecznego dotychczas nie były prowadzone. Przy właściwie dobranej metodyce badawczej, Autorka przeprowadziła badania i prawidłowo zinterpretowała uzyskane wyniki. Należy podkreślić, że uzyskane wyniki mogą znaleźć zastosowanie praktyczne we wczesnym wykrywaniu zaburzeń bariery naskórkowej strzyków krów mlecznych, co umożliwi również wczesne wprowadzenie działań terapeutyczno-profilaktycznych. W

związku z powyższym zwracam się z wnioskiem do Wysokiej Rady Wydziału Medycyny Weterynaryjnej w Lublinie o wyróżnienie rozprawy doktorskiej lek. wet. Anny Malinowskiej stosowną nagrodą.

W mojej opinii rozprawa doktorska lek. wet. Anny Malinowskiej odpowiada warunkom określonym w art. 13 ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki. Przedkładam zatem Wysokiej Radzie Wydziału Medycyny Weterynaryjnej Uniwersytetu Przyrodniczego w Lublinie wniosek o dopuszczenie lek. wet. Anny Malinowskiej do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Dr hab. Marcin Jankowski, prof. nadzw.  
LEKARZ WETERYNARII  
pl. Grunwaldzki 47, 50-366 Wrocław  
tel. 71 320 10 10

85088