Załącznik 2

Dr Siemowit Muszyński

Autoreferat

Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie

Wydział Inżynierii Produkcji

Katedra Fizyki

Lublin 2018

1. **Imię i nazwisko:** SIEMOWIT MUSZYŃSKI

2. **Posiadane dyplomy i stopnie naukowe:**

Doktor nauk rolniczych w zakresie inżynierii rolniczej, 06.11.2008 r., Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, Wydział Inżynierii Produkcji.
Tytuł rozprawy doktorskiej wykonanej w Katedrze Fizyki: „Modelowanie kinetyki kiełkowania wybranych nasion w zmiennych warunkach fizycznych i termodynamicznych"
Promotor: prof. dr hab. Stanisław Pietruszewski

Magister fizyki w zakresie fizyki komputerowej, 08.07.2003 r., Uniwersytet Marii Curie-Skłodowskiej w Lublinie, Wydział Fizyki, Matematyki i Informatyki.
Tytuł pracy magisterskiej wykonanej w Instytucie Fizyki, Katedrze Fizyki Teoretycznej: „Właściwości maszyny LSM zbudowanej na neuronach Hodgkina-Huxleya"
Promotor: prof. dr hab. Wiesław A. Kamiński

3. **Informacje o dotychczasowym zatrudnieniu w jednostkach naukowych:**

Od 01.10.2003 do 30.09.2015: asystent w Katedrze Fizyki, Wydział Inżynierii Produkcji, Akademia Rolnicza w Lublinie (obecnie Uniwersytet Przyrodniczy Lublinie)
Od 01.10.2015 do chwili obecnej: adiunkt w Katedrze Fizyki, Wydział Inżynierii Produkcji, Uniwersytet Przyrodniczy Lublinie

4. **Wykazanie osiągnięcia*** wynikającego z art. 16 ust. 2 ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. 2016r. poz. 882 ze zm. w Dz. U. z 2016r. poz. 1311.):

a. Tytuł osiągnięcia naukowego:

Żywieniowe i hormonalne uwarunkowania rozwoju elementów układu ruchu u drobiu ze szczególnym uwzględnieniem homeostazy tkanki kostnej

b. Publikacje wchodzące w skład osiągnięcia naukowego:

O.1. Tomaszewska E., **Muszyński S.**, Dobrowolski P., Kwiecień M., Winiarska-Mieczan A., Świetlicka I., Wawrzyniak A. 2017. Effect of zinc level and source (zinc oxide vs zinc glycine) on bone mechanical and geometric parameters, and histomorphology in male Ross 308 broiler chicken, *Brazilian Journal of Poultry Science*, 19, 159-170. *IF: 0,465, MNiSW: 20,*
Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na współudziale w zaplanowaniu koncepcji pracy, opracowaniu metodyki i współudziale w wykonaniu testów mechanicznych, współudziale w analizie histomorfometrycznej, opracowaniu wyników, wykonaniu analizy statystycznej i interpretacji wyników oraz na przygotowaniu manuskryptu do publikacji.
Mój udział procentowy szacuję na 42%.

O.2. **Muszyński S.**, Tomaszewska E., Kwiecień M., Dobrowolski P., Tomczyk A. 2018. Subsequent somatic axis and bone tissue metabolism responses to a low-zinc diet with or without phytase inclusion in broiler chickens, PLoS One, DOI: 10.1371/journal.pone.0191964. *IF: 2,806, MNiSW: 35,*
Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na zaplanowaniu koncepcji pracy, opracowaniu metodyki i współudziale w wykonaniu testów mechanicznych, współudziale w analizie histomorfometrycznej, opracowaniu wyników, wykonaniu analizy statystycznej i interpretacji wyników oraz na przygotowaniu manuskryptu do publikacji. Jestem współautorem korespondencyjnym.
Mój udział procentowy szacuję na 85%.

O.3. **Muszyński S.**, Tomaszewska E., Kwiecień M., Dobrowolski P., Tomczyk A. 2018. Effect of dietary phytase supplementation on bone and hyaline cartilage development of broilers fed with organically complexed copper in a Cu-deficient diet, Biological Trace Elements Research, 182, 339-353. *IF: 2,399, MNiSW: 15,*
Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na zaplanowaniu koncepcji pracy, opracowaniu metodyki i współudziale w wykonaniu testów mechanicznych, współudziale w analizie histomorfometrycznej, opracowaniu wyników, wykonaniu analizy statystycznej i interpretacji wyników oraz na przygotowaniu manuskryptu do publikacji. Jestem autorem korespondencyjnym.
Mój udział procentowy szacuję na 85%.

O.4. Tomaszewska E., Dobrowolski P., Klebaniuk R., Kwiecień M., Tomczyk-Warunek A., Szymańczyk S., Kowalik S., Milczarek A., Blicharski T., **Muszyński S.** 2018. Gut-bone axis response to dietary replacement of soybean meal with raw low-tannin faba bean seeds in broiler chickens, PLoS One, 13(4): e0194969. *IF: 2,806, MNiSW: 35,*
Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na współudziale w zaplanowaniu koncepcji pracy, opracowaniu metodyki i współudziale w wykonaniu testów mechanicznych, opracowaniu wyników, wykonaniu analizy statystycznej i interpretacji wyników oraz na przygotowaniu manuskryptu do publikacji. Jestem współautorem korespondencyjnym.
Mój udział procentowy szacuję na 31%.

O.5. **Muszyński S.**, Kwiecień M., Świetlicki M., Dobrowolski P., Tatarczak J., Gładyszewska B. 2018. The effects of replacing soybean meal with chickpea seeds in the diet on mechanical and thermal properties of tendon tissue in broiler chicken, Poultry Science, 97, 695–700. *IF: 1,908, MNiSW: 35,*
Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na zaplanowaniu koncepcji pracy, opracowaniu metodyki i wykonaniu analiz DSC, opracowaniu metodyki i współudziale w wykonaniu testów mechanicznych, opracowaniu wyników, wykonaniu analizy statystycznej i interpretacji wyników oraz na przygotowaniu manuskryptu do publikacji. Jestem autorem korespondencyjnym.
Mój udział procentowy szacuję na 86%.

O.6. **Muszyński S.**, Kwiecień M., Tomaszewska E., Świetlicka I., Dobrowolski P., Kasperek K., Jeżewska-Witkowska G. 2017. Effect of caponization on performance and quality characteristics of long bones in Polbar chickens, *Poultry Science*, 96, 491-500. *IF: 1,908, MNiSW: 35,*
Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na zaplanowaniu koncepcji pracy, opracowaniu metodyki i współudziale w wykonaniu testów mechanicznych, opracowaniu wyników, wykonaniu analizy statystycznej i interpretacji wyników oraz na przygotowaniu manuskryptu do publikacji. Jestem autorem korespondencyjnym.
Mój udział procentowy szacuję na 74%.

Sumaryczny Impact Factor wymienionych publikacji wyliczony zgodnie z dostępną punktacją za rok 2016 (brak punktacji za lata 2017 i 2018) wynosi **12,292**. Sumaryczna liczba punktów MNiSW (zgodna z rokiem opublikowania) wynosi **175**. Opis indywidualnego wkładu habilitanta w powstanie tych prac oraz oświadczenia współautorów o udziale własnym w przygotowaniu prac wchodzących w skład osiągnięcia naukowego stanowią załącznik nr 7.

c. omówienie celu naukowego ww. prac i osiągniętych wyników wraz z omówieniem ich ewentualnego wykorzystania.

Uzasadnienie badań

Do głównych zadań układu kostnego tworzącego szkielet, który wspólnie z systemem mięśniowo-więzadłowym współtworzy układ ruchu, należy usztywnienie poszczególnych elementów ciała pozwalające na poruszanie się (odpowiednia sprawność ruchowa ptaka), przeciwstawianie się sile grawitacji oraz ochrona ważnych dla organizmu narządów. Kości, prócz stanowienia konstrukcji nośnej, są też miejscem przyczepów ścięgien i wiązadeł. Szkielet, ścięgna i więzadła nawzajem na siebie oddziałują i wspólnie decydują o cechach mechanicznych, kinetycznych i metabolicznych kości. Do głównych funkcji metabolicznych kości należy magazynowanie wapnia, fosforanów oraz innych jonów, w tym miedzi i cynku.

Poszczególne elementy aparatu ruchu charakteryzują się innym tempem metabolizmu, z którego wynika odmienne tempo wzrostu. Kości zbudowane są z szeregu tkanek łącznych, przy czym najbardziej istotne dla prawidłowego funkcjonowania aparatu ruchu są dwie odmiany tkanki łącznej podporowej: tkanka kostna i tkanka chrzęstna. Tkanka kostna zbudowana jest ze składników nieorganicznych (mineralnych) warunkujących gęstość i wytrzymałość mechaniczną kości oraz składników organicznych tworzących osseinę, która zapewnia jej sprężystość. Większość struktury mineralnej budującej kość stanowią sole wapniowe, ulokowane głównie w formie fosforanu wapniowego w strukturach hydroksyapatytu. Osseina zawiera włókna kolagenowe, proteoglikany, lipidy oraz inne białka niekolagenowe (osteokalcyna, osteonektyna, osteopontyna). Anatomiczny kształt i wielkość kości jako narządu oraz ich wewnętrzna struktura są przykładem przystosowania budowy do przeciwdziałania siłom grawitacyjnym oraz mechanicznym naciskom, powstającym w czasie pełnienia czynności ruchowych, a każda zmiana w kształcie i czynności kości, bądź tylko zmiana w ich czynności, prowadzi do określonych zmian w wewnętrznej strukturze. Tkanka kostna jest aktywna metabolicznie i przez całe życie podlega procesowi ciągłej przebudowy - remodelowaniu. Efektem aktywności osteoklastów, czyli komórek kościogubnych, jest ubytek tkanki kostnej zwany osteolizą, natomiast osteoblastów, komórek odbudowy, formowanie nowej kości. Wpływ na zmiany w strukturze kości mają również międzycząsteczkowe sieci kolagenu oraz oddziaływanie proteoglikanów i białek niekolagenowych.

Przez wiele lat uważano ścięgna za bierne elementy układu ruchu, łączące mięśnie z elementami kostnymi układu. Jako elementy bierne nie wykonywały aktywnej pracy, a jedynie modulowały siły oraz zapewniały dodatkową stabilność podczas poruszania się. W ostatnich latach coraz większą uwagę skupia się na analizie sprężystości ścięgien, co pozwala im dodatkowo, w ograniczonym zakresie, działać jak „sprężyny", które dzięki zdolności do magazynowania energii mogą zwiększyć wydajność lokomocji. Ponadto zdolność ścięgien do rozciągania sprawia, że mięśnie przy niewielkiej zmianie swojej długości są w stanie wygenerować większe siły. Właściwości mechaniczne ścięgien zależą głównie od średnicy, orientacji i upakowania włókien kolagenowych.

Rozwój i wzrost kości oraz utrzymanie homeostazy tkanki kostnej są regulowane przez liczne czynniki, spośród których do najważniejszych należy zaliczyć czynniki żywieniowe, w tym obecność i biodostępność podstawowych składników odżywczych, jak białko i pierwiastki mineralne (makro- i mikroelementy). Wykazano, że zarówno u ssaków, jak i ptaków, ilość i źródło białka wpływają na rozwój i remodelowanie zarówno mineralnej, jak i organicznej frakcji kości. Logiczne staje się więc wspomaganie optymalnej homeostazy tkanki kostnej prawidłowo zbilansowaną dietą. Można również wyróżnić wiele grup substancji biologicznie czynnych, zawartych lub wprowadzanych do diety w postaci suplementów, których zastosowanie ma wspomagać metabolizm tkanki kostnej. Są to m.in.: witaminy i enzymy. Jak wspomniano wyżej, istotny wpływ na mineralizację kości mają zwłaszcza niektóre mikroelementy. Należy do nich cynk, którego wielokierunkowa aktywność biologiczna wynika z uczestnictwa w ponad 300 reakcjach enzymatycznych i metabolicznych, istotnych również w funkcjonowaniu układu ruchu. Utrzymanie prawidłowego statusu cynku w organizmie jest niezbędne w procesie mineralizacji kości. Jego niedobór wpływa ujemnie na formowanie kośćca, prowadzi do zaburzenia mineralizacji i spadku wytrzymałości kości, zwiększa prawdopodobieństwo występowania zaburzeń lokomotorycznych. Natomiast zbyt niska zawartość w diecie innego mikroelementu, miedzi, powoduje obniżenie intensywności mineralizacji oraz zaburzenia struktury sieci kolagenu. Jednak i nadmiar mikroelementów może być szkodliwy. Dostarczenie w nadmiarze jednego z mikroelementów pogarsza przyswajalność pozostałych. Ich nadpodaż oddziałuje tym samym w sposób niekorzystny na ogólny metabolizm organizmu jak i homeostazę tkanki kostnej. Biodostępność poszczególnych mikroelementów stosowanych w postaci różnych połączeń (związków) nie jest jednakowa, przy czym wiele danych piśmiennictwa naukowego z ostatnich lat wskazuje na zwiększoną dostępność organicznych form mikroelementów. Przyswajalność mikroelementów wynika z rodzaju procesu wchłaniania. I tak, transport przez błonę komórkową na drodze dyfuzji jest znacznie mniej efektywny dla związku nieorganicznego od przenoszenia składnika mineralnego związanego z aminokwasem. W związku z tym, w ostatnich latach prowadzone są badania mające na celu określenie, czy zastosowanie organicznych kompleksów aminokwasowych podstawowych mikroelementów (Cu, Zn, Fe), dzięki ich większej biodostępności i efektywności wchłaniania, pozwala na obniżenie ich poziomu w diecie. Ponadto, istnieją badania sugerujące, że obniżenie poziomu wybranych mikroelementów w diecie, bez negatywnego wpływu na homeostazę tkanki kostnej, jest możliwe w przypadku dodatkowej suplementacji diety fitazą.

Fitaza, enzym hydrolizujący kwas fitynowy, jest najczęściej stosowanym suplementem. Wzbogacenie diety egzogenną fitazą może wpływać na prawidłową mineralizację kośćca, zwłaszcza w przypadku diet niedoborowych w niektóre makro- i mikroelementy. Dzieje się to głównie za sprawą uwalniania fosforu ze związków fitynowych, ale obecność egzogennej fitazy może zwiększyć również koncentrację innych mikroelementów w kościach, tym samym prowadzić do poprawy ich struktury i wytrzymałości.

Tkanka kostna podlega również oddziaływaniu czynników hormonalnych. Fizjologicznie największy przyrost masy kostnej występuje w okresie wzrostu i dojrzewania płciowego organizmu, jest on więc ściśle związany z rozwojem gruczołów płciowych i ich aktywnością. W wyniku zaburzeń hormonalnych gonad samców dochodzi do zmian patologicznych męskiego układu rozrodczego, manifestujących się upośledzeniem lub brakiem aktywnych androgenów. Androgeny stymulują nie tylko metabolizm ogólny organizmu i syntezę białka zwiększając masę mięśniową, ale i syntezę nowej kości, zwiększają odkładanie wapnia w kościach, działają antyresorpcyjnie i stabilizują masę kostną. Badania na ssakach wykazały że spadek biosyntezy i sekrecji testosteronu stanowi bezpośrednią przyczynę pojawienia się zmian w homeostazie tkanki kostnej, co prowadzi do zaburzeń struktury i mikroarchitektury kości.

Ścięgna, podobnie jak kości, reagują na wzrost obciążenia mechanicznego zmianami w procesach wzrostu i przebudowy. Obciążenie to może mieć charakter grawitacyjny (większy ciężar ciała lub części, np. kończyny), lub wynikać ze zwiększonej aktywności fizycznej i konieczności ciągłego przenoszenia siły mięśniowej. Nie wiadomo jednak, jak - i czy w ogóle - wytrzymałość mechaniczna ścięgien jest modulowana poprzez czynniki żywieniowe lub rodzaj diety.

W wyniku prowadzenia prac selekcyjnych oraz doskonalenia warunków odchowu drobiu o mięsnym kierunku użytkowania nastąpiło znaczne skrócenie okresu odchowu. Tempo wzrostu tkanki mięśniowej, głównego składnika tuszki, wzrosło znacznie w porównaniu do tempa wzrostu układu kostnego. Wynikające z nieproporcjonalnego rozrostu mięśni piersiowych przesunięcie środka ciężkości ptaka do przodu zaburza optymalne z punktu widzenia anatomii rozłożenie masy ciała, co nie pozostaje obojętne dla wolniej rozwijającego się szkieletu. Kości udowe i piszczelowo-stępowe oraz stawy i ścięgna kończyny miednicznej podlegają nadmiernym obciążeniom, doprowadzając do zmian patologicznych w obrębie tkanki kostnej i chrząstek. Niewystarczający wzrost tkanki kostnej prowadzi do różnego rodzaju chorób i schorzeń metabolicznych (dyschondroplazja piszczelowa, kątowa deformacja kości, skręcenie dolnej nasady kości piszczelowej, kręgozmyk, oderwanie chrząstki nasadowej, krzywica, skrzywienia i przykurcze palców, złamania kończyn), których następstwem jest upośledzenie funkcji podporowo-nośnej układu ruchu, sprawiające, że ptaki mogą mieć problemy z utrzymaniem równowagi lub poruszają się z trudnością. Mają przez to tendencję do ograniczania ruchu i przyjmowania pozycji siedzącej, co powoduje nie tylko spadek zainteresowania pobieraniem paszy i wody, ale prowadzi do deformacji i odgnieceń mięśni piersiowych i może być przyczyną infekcji, kulawizn, deformacji i złamań kości, powodując zwiększenie stresu u ptaków, którego skutkiem jest zwiększona liczba padnięć. W związku z tym prace hodowlane ukierunkowane jedynie na uzyskanie jak największego umięśnienia ptaków, nie

tylko kolidują z ich dobrostanem, ale, paradoksalnie, mogą ujemnie wpływać na efekty ekonomiczne odchowu.

Czynniki będące przyczyną wyżej wymienionych zaburzeń są różne i często działają synergistycznie, antagonistycznie lub cyklicznie, potęgując efekty ujemnego odziaływania. Do czynników tych zalicza się nie tylko szybki wzrost, ale także niestabilne i niezbilansowane żywienie energetyczne, białkowe, witaminowe i mineralne, zatrucia, choroby zakaźne, uwarunkowania genetyczne. Ponadto przyczyną uszkodzeń szkieletu podczas życia ptaka mogą być zaburzenia hormonalne.

U drobiu, wpływ hormonów gonadalnych jest zazwyczaj badany u niosek, u których negatywnym efektem zaburzeń hormonalnych jest spadek nieśności z powodu intensyfikacji gospodarki wapniowej. Brak jest natomiast szczegółowych badań o wpływie hormonów gonadalnych wykazujących działanie anaboliczne na tkankę kostną u samców. U szybkorosnących brojlerów ocena wpływu zaburzenia gospodarki hormonalnej organizmu na homeostazę tkanki kostnej jest utrudniona ze względu na ich szybki wzrost i krótki cykl produkcyjny, z końcem którego nie jest osiągana przez ptaki dojrzałość płciowa. Badania wpływu zaburzeń gospodarki hormonalnej można prowadzić na modelach, u których blokuje się receptory androgenowe, symulując niewrażliwość narządów docelowych na androgeny (AIS, ang. a*ndrogen insensitivity syndrom*), w wyniku czego receptory androgenowe u osobników z tym syndromem są nieobecne lub nieaktywne funkcjonalnie. Drugim modelem mogą być osobniki u których wywołuje się hipogonadyzm. Wydaje się zatem, że właściwie dobranym modelem w tego typu badaniach mogą być kastrowane kogutki, tzn. kapłony, których produkcję przeprowadza się głównie u ras średnio- i wolnorosnących. Dobrym modelem do badań nad wpływem czynników żywieniowych na wzrost i rozwój poszczególnych elementów układu ruchu są zaś, ze względów wspomnianych powyżej, szybkorosnące brojlery kurze.

Cel badań

Celem badań przeprowadzonych w ramach osiągnięcia naukowego było:

1. Określenie wpływu poziomu i formy wybranych mikroelementów (Zn, Cu) w mieszance paszowej na parametry wytrzymałościowe i histomorfometryczne kości kurcząt brojlerów (**O.1**, **O.2**, **O.3**).
2. Określenie wpływu źródła białka w diecie kurcząt brojlerów na homeostazę tkanki kostnej oraz właściwości fizyczne ścięgien (**O.4**, **O.5**).
3. Określenie wpływu hipogonadyzmu na cechy osteometryczne i wytrzymałościowe kości kapłonów (**O.6**).

Zastosowane metody badawcze

Przygotowanie materiału do badań

Kości długie kończyny miednicznej: piszczelowo-stępowe (*tibiotarsus*) (**O.1**, **O.2**, **O.3**, **O.4**, **O.5**) oraz udowe (*os femoris*) (**O.1**, **O.6**) w poszczególnych doświadczeniach wyizolowano bezpośrednio po uboju. Po usunięciu tkanek miękkich kości zamrożono w temperaturze -69°C do czasu wykonania dalszych badań. Ścięgna mięśnia zginacza przeszytego palca trzeciego (*flexor perforans et perforatus digiti III*) (**O.5**) pobrano bezpośrednio po uboju, oczyszczono i zawinięto w gazę nasączoną solą fizjologiczną. Ścięgna przeznaczone do testów wytrzymałościowych zamrożono w temperaturze -21°C. Ścięgna przeznaczone do analiz metodą skaningowej kalorymetrii różnicowej DSC nie były zamrażane, tylko przetrzymywane w warunkach chłodniczych.

Określenie własności ostemetrycznych kości

Własności osteometryczne kości określono na podstawie pomiarów masy, długości oraz średnic poziomych (zewnętrznej i wewnętrznej) i średnic pionowych (zewnętrznej i wewnętrznej) przekroju poprzecznego środkowej części trzonu kości. W oparciu o te pomiary określono następujące parametry geometryczne trzonu: pole przekroju poprzecznego, średnią względną grubość ścian, wskaźnik korowo-trzonowy (**O.1**, **O.2**, **O.3**, **O.4**, **O.6**) oraz objętość trzonu (**O.1**, **O.2**, **O.3**). W doświadczeniu z kapłonami (**O.6**) wyznaczano również średnią względną grubość ścian i wskaźnik korowo-trzonowy w płaszczyźnie, w której dokonywano odkształcenia podczas testu zginania. Ponadto w czterech doświadczeniach (**O.2**, **O.3**, **O.4**, **O.6**) wyliczono wtórny moment bezwładności oraz promień bezwładności. Nie są to wielkości bezpośrednio określające geometrię czy cechy osteometryczne kości, ale mają istotne znaczenie przy określaniu odporności kości na zginanie (analiza materiałowa).

Określenie wytrzymałościowych (strukturalnych) własności kości

Ocenę parametrów charakteryzujących wytrzymałość mechaniczną kości przeprowadzono za pomocą trójpunktowego testu zginania na maszynie wytrzymałościowej Zwick Z010 (Zwick-Roell GmbH & Co., Niemcy). Test zginania wykonano dla części trzonowej kości (rozstaw podpór 40% całkowitej długości kości), przy obciążeniu zadawanym z szybkością przemieszczenia głowicy 10 mm/min w płaszczyźnie przednio-tylnej kości aż do jej złamania. Na podstawie zarejestrowanych krzywych siła-wychylenie określono następujące parametry strukturalne kości: siła sprężysta, wyznaczana w miejscu odchylenia krzywej wykresu siła-odkształcenie od linii prostej (obrazującej zależność między działającą siłą a odkształceniem) oraz siła krańcowa – powodująca pęknięcie i dezintegrację strukturalną kości (**O.1**, **O.2**, **O.3**, **O.4**, **O.6**). W dwóch doświadczeniach (**O.4**, **O.6**) z wykresu siła-odkształcenie wyznaczono ponadto: sztywność jako nachylenie krzywej w zakresie odkształcenia sprężystego oraz energię sprężystą i pracę do zniszczenia.

Określenie materiałowych własności kości

Na podstawie wyznaczonych parametrów strukturalnych i geometrycznych w doświadczeniach (**O.4**, **O.6**) wyznaczono następujące parametry materiałowe kości piszczelowo-stępowej oraz udowej:

moduł sprężystości Younga (określający opór, jaki stawia zginana kość), moment gnący (określający obciążenie przypadające na odcinek odkształcanej kości), odkształcenie sprężyste (określające zakres odkształcenia, dla którego obowiązuje prawo Hooke'a), odkształcenie graniczne (określające odkształcenie kości w chwili pęknięcia), granica sprężystości (określająca graniczne naprężenie sprężyste) i wytrzymałość na zginanie (określające naprężenie w chwili przyłożenia siły krańcowej). W doświadczeniach (**O.2, O.3**) określono tylko moment gnący, odkształcenie graniczne oraz wytrzymałość na zginanie.

Określenie gęstości mineralnej istoty korowej i gąbczastej kości

Do oceny BMD (*bone mineral density*) i BMC (*bone mineral content*) wykorzystano metodę absorpcjometrii podwójnej energii promieniowania X – DXA na aparacie Discovery W (Hologic, USA) (**O.4**) lub XR 43 (Norland, USA) (**O.6**). Pomiar BMD i BMC dokonany został dla całej kości oraz oddzielnie dla trzonów oraz nasady bliższej i dalszej kości.

Określenie gęstości tkankowej kości

Ocenę gęstości tkankowej BTD (*bone tissue density*) trzonów oraz nasady bliższej i dalszej kości przeprowadzono za pomocą piknometru helowego AccuPyc 1330 (Micrometrics, USA). Przed pomiarem badane fragmenty kości wysuszono w temperaturze 105°C (**O.4**, **O.6**).

Określenie zawartości popiołu

Fragmenty trzonów zmineralizowano w piecu muflowym w temperaturze 700-650°C w celu wyznaczenia zawartości popiołu surowego. Zawartość popiołu wyrażono jako procent suchej masy kości (**O.2**, **O.3**, **O.4**, **O.6**).

Ocena histologiczna tkanki kostnej i chrzęstnej

Fragmenty nasady bliższej kości piszczelowo-stępowej (**O.1**, **O.2**, **O.3**) oraz nasady dalszej kości udowej (**O.1**) zawierające fragment chrząstki stawowej, chrząstki wzrostowej i kości beleczkowej utrwalono w formalinie, odwapniono w roztworze EDTA, a na koniec zatopiono w bloczki parafinowe. Przygotowane preparaty histologiczne wybarwiono metodą standardową PSR i trójchromową Goldnera w celu oceny mikroarchitektury kości beleczkowej oraz identyfikacji stref chrząstki wzrostowej oraz z zastosowaniem safraniny O w celu identyfikacji proteoglikanów.

Ocena kości beleczkowej: Histologiczna ocena struktury beleczek kostnych wykonana została przy użyciu mikroskopu konfokalnego AXIOVERT 200M (Carl Zeiss, Niemcy) przy pomocy programu CellSens. Określono rzeczywistą objętość kości beleczkowej, grubość beleczki kostnej, wielkość przestrzeni międzybeleczkowej (**O.1**, **O.2**, **O.3**) oraz liczbę beleczek (**O.2**, **O.3**). W kości beleczkowej określono również stosunek dojrzałych oraz niedojrzałych włókien kolagenowych (**O.2**).

Ocena chrząstki wzrostowej oraz stawowej: Oceny histomorfometrycznej chrząstek dokonano na podstawie analizy obrazów preparatów zarejestrowanych w mikroskopie konfokalnym AXIOVERT 200M (Carl Zeiss, Niemcy) oraz w mikroskopie polaryzacyjnym DM 2500 (Leica, Niemcy). Zidentyfikowano całkowitą grubość chrząstki oraz następujące strefy chrząstki wzrostowej: spoczynkowa (I), proliferacyjna (II), hipertroficzna (III) oraz wapniejąca (IV). Dla chrząstki stawowej prócz całkowitej grubości chrząstki również zidentyfikowano strefy: powierzchniową (I), przejściową (II) oraz głęboką (III). W obszarze chrząstki stawowej oceniono zawartość proteoglikanów oraz stosunek dojrzałych i niedojrzałych włókien kolagenowych (**O.2**, **O.3**).

Określanie zawartości wybranych składników mineralnych w kościach

Zawartość wybranych mikroelementów w suchej masie tkanki kostnej wyznaczono po zmineralizowaniu kości w piecu muflowym. Zawartość wapnia mierzono za pomocą spektrometrii emisyjnej atomowej plazmy indukcyjnie sprzężonej (ICP-AE) na aparacie SP 950 (Leeman Labs, Wielka Brytania) (**O.6**). Zawartość fosforu oznaczono metodą kolorymetryczną na aparacie Helios (Unicam Instruments, Wielka Brytania) (**O.6**). W doświadczeniach (**O.2**, **O.3**, **O.4**) zawartość składników mineralnych (Ca, P, Cu) oznaczono metodą spektrometrii absorpcji atomowej na aparacie Unicam 939 (Pye Unicam, Niemcy).

Określenie cech wytrzymałościowych ścięgien

Testy jednoosiowego rozciągania ścięgien (**O.5**) przeprowadzono po ich rozmrożeniu, dbając o to, aby część poddawana rozciąganiu nie uległa wysuszeniu. Testy wykonano na maszynie wytrzymałościowej Zwick-Roell 005 (Zwick-Roell GmbH & Co., Niemcy) przy szybkości rozciągania 10 mm/min. Wyznaczono siłę zrywającą (jako siłę powodująca zerwanie ścięgna), sztywność (jako nachylenie krzywej siła-odkształcenie w zakresie odkształcenia sprężystego), wytrzymałość na rozciąganie (określające naprężenie w chwili zerwania), odkształcenie graniczne (określające odkształcenie ścięgna w chwili zerwania), moduł sprężystości Younga (określający opór jaki stawia ścięgno podczas rozciągania) oraz pracę do zerwania (jako pole pod krzywą siła-odkształcenie).

Badanie właściwości termicznych ścięgien za pomocą skaningowej kalorymetrii różnicowej (DSC)

Analizie poddano nasiąknięte solą fizjologiczną fragmenty ścięgien **(O.5)** w zakresie temperatur od 20°C do 90°C przy tempie skanowania 10°C/min. Badania wykonano na aparacie STAR^{e} DSC-1 (Mettler-Toledo GmbH, Szwajcaria). Wyznaczono termiczne parametry denaturacji kolagenu: temperaturę początku przemiany T_{on}, temperaturę wierzchołka piku przemiany T_{max}, temperaturę końca przemiany T_{end} oraz całkowitą entalpię przemiany ΔH, wyrażoną również w odniesieniu do suchej masy ścięgien.

Określenie stężenia wybranych hormonów i markerów obrotu kostnego

Analizy stężenia wybranych hormonów (hormon wzrostu, leptyna) oraz insulinopodobnego czynnik wzrostu typu I (IGF-I) i osteokalcyny w surowicy krwi zostały przeprowadzone przy pomocy metody ELISA (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay) (**O.1**, **O.2**, **O.3**). Do oznaczeń wykorzystano komercyjne zestawy przeznaczone dla drobiu.

Określanie zawartości wybranych składników mineralnych w surowicy

Zawartość wybranych makro- i mikroelementów (Ca, P, Cu, Zn, Fe, Mg) w surowicy krwi określono metodą kolorymetryczną na analizatorze Metrolab 2300 GL (Metrolab, Argentyna) (**O.1**, **O.2**, **O.3**) lub Mindray BS-120 (Mindray Bio-Medical Electronics Co. Ltd, Chiny) (**O.4**).

Omówienie wyników prac wskazanych jako szczególne osiągniecie

Określenie wpływu poziomu i formy wybranych mikroelementów (Zn, Cu) w mieszance paszowej na parametry wytrzymałościowe i histomorfometryczne kości kurcząt brojlerów.

Celem badania, którego wyniki opisano w pracy (**O.1**), była ocena wpływu dodawania suplementów mineralnych cynku jako organicznego (ZnGly) i nieorganicznego (ZnO) źródła cynku do paszy przeznaczonej dla drobiu na parametry mechaniczne, geometryczne i histomorfometryczne kości długich. W badaniu tym oceniano również wpływ różnych poziomów suplementacji (rekomendowanych i ograniczonych do 50% poziomu rekomendowanego).

Doświadczenie przeprowadzono na 250 jednodniowych brojlerach kurzych (samiec Ross 308) losowo przydzielonych do 5 grup (5 powtórzeń po 10 ptaków w grupie). Obejmowały one grupę kontrolną pozbawioną dodatku Zn w premiksie paszowym oraz grupy doświadczalne suplementowane cynkiem w postaci ZnO (standardowe nieorganiczne źródło cynku) lub w formie organicznych kompleksów aminokwasowych (ZnGly). Zawartość suplementowanego cynku w dietach doświadczalnych wynosiła 50 lub 100 mg/kg mieszanki paszowej, co odpowiada odpowiednio 50% i 100% rekomendowanej suplementacji cynkiem dla brojlerów Ross 308. Po 42 dniach chowu wybrano losowo 10 ptaków z każdej grupy (po 2 ptaki z każdego powtórzenia w grupie) i poddano eutanazji. Po uboju pobrano kości piszczelowo-stępowe oraz udowe, które poddano testom wytrzymałościowym, oceniono ich parametry osteometryczne i wykonano analizę histomorfometryczną kości beleczkowej. Wykonano również analizy w celu określenia stężeń hormonu wzrostu, leptyny i osteokalcyny, jak też poziomu Zn, Cu, Ca, Mg, Fe i P w surowicy krwi.

Uzyskane wyniki pokazały jednoznacznie, że wprowadzenie cynku do diety nie wpłynęło na końcową masę ciała ptaków oraz masę i długość badanych kości. Analiza osteometryczna wykazała, że wpływ zarówno formy cynku, jak i jego poziomu w diecie, na geometrię kości jest odmienny dla każdej z kości. Kości udowe ptaków z grup doświadczalnych charakteryzowały się większym polem przekroju porzecznego trzonu, wartością indeksu korowo-trzonowego, objętością trzonu i względną grubością

ścian. Zmian tych nie zaobserwowano dla kości piszczelowo-stępowej. Jednak obecność cynku w premiksie (niezależnie od jego źródła) prowadziła do zwiększenia stosunku masy do długości obu kości, czyli parametru, który może być traktowany jako wskaźnik gęstości kości. Wykonany test zginania trójpunktowego wykazał, że tylko w przypadku kości udowej doszło do zmian wytrzymałości mechanicznej będących wynikiem suplementacji zarówno ZnO jak i Zn-Gly. Wykonana analiza histomorfometryczna ujawniła, że cynk podawany w formie nieorganicznej, niezależnie od dawki, poprawił mikroarchitekturę kości beleczkowej kości udowej, zwiększając objętość kości beleczkowej oraz grubość beleczek. W przypadku kości piszczelowo-stępowej zaobserwowano odmienne zmiany po suplementacji, bez względu na źródło i dawkę cynku. Forma i poziom cynku nie wpłynęły na stężenie hormonu wzrostu, osteokalcyny oraz poziom Zn, Ca, Mg, Fe i P w surowicy, jedynie zaobserwowano wzrost stężenia IGF-1 w surowicy krwi ptaków z obu grupach suplementowanych cynkiem w poziomie 50 mg/kg paszy.

Podsumowując, badania opisane w pracy (**O.1**) są pierwszymi badaniami, w których wpływ podawania cynku w dawce niższej niż rekomendowana oceniano u drobiu równocześnie na podstawie zmian osteologicznych i wytrzymałościowych trzonów kości oraz analiz histomorfometrycznych nasad. Zmiany zaobserwowane w kości udowej sugerują, że cynk podawany już w ilości 50 mg/kg mieszanki paszowej niezależnie od formy przyśpieszył dojrzewanie tej kości (lepsza struktura kości korowej w obszarze trzonu kości, większa wytrzymałość mechaniczna). Równocześnie doszło do pogorszenia struktury nasady kości piszczelowo-stępowej, zwłaszcza po suplementacji cynkiem w formie organicznej. Sugeruje to większą podatność stawu kolanowego na powstawanie zmian patologicznych, utrudniających chodzenie. Powstałe różnice w odpowiedzi obu kości na różne formy cynku w diecie, mogą wynikać z różnego ułożenia oraz sposobu przenoszenia ciężaru w kończynie miednicznej, mimo pełnienia przez nie jednakowych funkcji podporowo-nośnych. Ta odmienność predysponuje kość piszczelowo-stępową do większej podatności na zaburzenia wzrostowo-rozwojowe oraz uszkodzenia u szybko rosnących brojlerów. Kość piszczelowo-stępowa, na której opiera się główny ciężar masy ciała ptaków, pełni inną funkcję w aparacie ruchu i podlega innym obciążeniom niż kość udowa. Niemniej jednak, analizowano także parametry kości udowej, aby uzyskać dokładniejszą odpowiedź jak poszczególne czynniki wpływają na wytrzymałość mechaniczną kośćca. Jak wykazano w pracy (**O.1**) badanie wytrzymałości kości udowej nie zawsze daje jednak pełny obraz wpływu zastosowanych czynników żywieniowych na rozwój układu szkieletowego brojlerów. W przeprowadzonych badaniach potwierdzono tym samym, że to kość piszczelowo-stępowa powinna być kością modelową w ocenie wytrzymałościowej tkanki kostnej i chrzęstnej u kurcząt.

Celem kolejnego badania, którego wyniki przedstawiono w pracy (**O.2**), było określenie parametrów histologicznych, mechanicznych i składu mineralnego kości piszczelowo-stępowej oraz wybranych hormonów zaangażowanych w ogólny wzrost i rozwój kości u samców brojlerów Ross 308 którym podano organiczny cynk z dodatkiem fitazy (500 FTU) lub bez niej. Zastosowana dawka cynku

w formie organicznego kompleksu aminokwasowego (Zn-Gly) została obniżona do poziomu 25% rekomendowanej ilości w mieszance paszowej (25 mg/kg paszy).

Doświadczenie przeprowadzono w porównaniu do dwóch grup kontrolnych: negatywnej, pozbawionej dodatku cynku w premiksie paszowym oraz pozytywnej, w której cynk był obecny w formie ZnO, podawanego w ilości rekomendowanej (100 mg/kg paszy, 100% wg. normy NRC). Doświadczenie przeprowadzono na jednodniowych samcach Ross 308 (n = 200), w grupach liczących po 50 osobników (5 powtórzeń po 10 ptaków). W 42 dniu losowo wybrano 10 ptaków z każdej grupy (po 2 ptaki z powtórzenia) i poddano eutanazji.

Aby w pełniejszy sposób niż w poprzednim badaniu ocenić wpływ cynku na rozwój kości, badania uzupełniono o analizę zawartości wybranych makro- i mikroelementów (Zn, Cu, Mg, Fe, Ca, P) w kościach oraz o ocenę histologiczną chrząstki wzrostowej i stawowej, identyfikując w obu chrząstkach ich strefy. Dokonano też oceny zawartości proteoglikanów, warunkujących własności lepko-sprężyste chrząstki oraz określono stosunek włókien kolagenowych w kości beleczkowej i chrząstce stawowej. W osoczu krwi oznaczono stężenia Ca, P, Zn, Cu i Fe; w surowicy krwi oznaczono stężenie hormonu wzrostu, osteokalcyny, leptyny oraz IFG-1.

Obniżony poziom cynku w diecie bez dodatku egzogennej fitazy nie wpłynął na przyrosty masy ciała kurcząt brojlerów. Większe przyrosty, takie same jak w pozytywnej grupie kontrolnej, zaobserwowano natomiast w grupie suplementowanej cynkiem oraz fitazą. Obecność cynku, niezależnie od jego formy, chociaż nie płynęła na masę i długość kości piszczelowo-stępowej, oddziaływała na cechy osteometryczne trzonu kości, gdzie zaobserwowano poprawę cech geometrycznych. Zawartość Mg w kościach oraz popiołu surowego była istotnie wyższa w grupach doświadczalnych w porównaniu do obu grup kontrolnych. W grupach doświadczalnych stwierdzono również poprawę wytrzymałości kości (siła sprężysta, siła krańcowa, moment gnący). Wyliczone wartości naprężeń były jednak w obu grupach doświadczanych różne. Naprężenia, które występowały podczas zginania kości z grupy doświadczalnej pozbawionej dodatku fitazy były zbliżone do obserwowanych w kościach z negatywnej grupy kontrolnej. W kościach z drugiej grupy doświadczalnej (suplementowanej dodatkowo fitazą) naprężenia były takie same jak w pozytywnej grupie kontrolnej. Analiza zawartości składników mineralnych w kościach wykazała, że zawartość Ca, P i Fe nie zależała od rodzaju diety. Zawartość Zn we wszystkich grupach suplementowanych tym mikroelementem była na takim samym poziomie, natomiast zawartość Mg wzrosła tylko w obu grupach doświadczalnych, a zawartość Cu zmniejszyła się w grupie doświadczalnej bez dodatku fitazy. Zatem wyniki zawartości składników mineralnych w kościach mogą sugerować, że mocniejsze kości u brojlerów karmionych dietami o niskiej zawartości cynku i fitazą nie wynikają z lepszej mineralizacji, ale z bardziej dojrzałych geometrycznie kości.

Grubość chrząstki wzrostowej oraz jej poszczególnych stref, poza strefą IV, była w grupach doświadczalnych istotnie wyższa niż w obu grup kontrolnych. Może być to związane z poprawą wzrostu i dojrzewania komórek kostnych.

Wykonana analiza histomorfometryczna nasady wykazała pozytywny wpływ organicznego kompleksu aminokwasowego cynku na mikrostrukturę kości beleczkowej (wzrost objętości beleczek kostnych i średniej grubości beleczki kostnej) w obu grupach doświadczalnych, chociaż nie był on na tyle znaczący, by osiągnąć poziom obserwowany w pozytywnej grupie kontrolnej.

W niniejszym badaniu stwierdzono istotne zwiększenie grubości chrząstki stawowej u brojlerów kurzych suplementowanych cynkiem w formie organicznej w ilości 25 mg/kg mieszanki paszowej, niezależnie od obecności fitazy, w porównaniu z negatywną grupą kontrolną i zmiana ta była na tyle znacząca, że grubość chrząstki stawowej osiągnęła poziom obserwowany w pozytywnej grupie kontrolnej. Zaobserwowana poprawa struktury chrząstki stawowej w grupach, w których cynk był podawany w formie organicznego kompleksu aminokwasowego, może pozytywnie wpłynąć na rozkład obciążeń w stawie i poprawić elastyczność chrząstki stawowej, chroniąc ją przed nadmierną degradacją u szybko rosnących brojlerów. Z drugiej strony, chrząstka stawowa ptaków z negatywnej grupy kontrolnej pozbawionej dodatku cynku w diecie wykazywała na tyle istotną redukcję grubości całkowitej oraz poszczególnych jej stref, że może wpłynąć to rozkład obciążeń w stawie z konsekwencjami funkcjonalnymi. Chrząstka o tak zmienionych cechach morfometrycznych może pod wpływem działania sił mechanicznych doznawać tak intensywnego zużycia, że jej adaptacja do panujących obciążeń będzie niewystarczająca. Może to powodować degradację chrząstki stawowej, powodując tym samym trudności w ruchu, ponieważ redukcja grubości może zmienić elastyczność chrząstki stawowej, czego następstwem jest zmniejszenie się jej podatności do odkształceń sprężystych podczas ruchu. Tak zmienione chrząstki mogą również w większym stopniu ulegać mechanicznemu oddzieleniu od tronu kości. W obu grupach doświadczalnych obserwowano również wzrost liczby proteoglikanów, niezależnie od obecności fitazy. To również wskazuje na to, że w tych grupach tych mogło dojść do wzrostu elastyczności chrząstki stawowej, ponieważ proteoglikany mają funkcje hydrodynamiczne, a ich zwiększona zawartość może chronić chrząstkę stawową przed degradacją, przeciwstawiając się kompresyjnemu naciskowi w stawie u szybko rosnących brojlerów.

Stężenie Zn, Fe i Ca w osoczu krwi znacznie wzrosło po dodaniu fitazy. Stężenie P i Cu w osoczu krwi nie ulegało zmianie, niezależnie od źródła cynku lub włączenia fitazy. W konsekwencji stosunek Ca/P w osoczu był najwyższy w grupie doświadczalnej z dodatkiem fitazy. Stężenie IGF-1 znacznie wzrosło wraz z wprowadzeniem cynku do diety, ale nie rosło dalej po dodaniu fitazy. Zarówno stężenie hormonu wzrostu, jak i stężenie leptyny znacząco wzrosło w grupach suplementowanych cynkiem, przy czym najwyższy poziom był notowany w grupie pozytywnej kontroli i grupie doświadczanej z dodatkiem fitazy. Suplementacja samym cynkiem w formie organicznej nie wpłynęła na stężenie osteokalcyny, ale zaobserwowano znaczny wzrost jej stężenia po włączeniu fitazy do diety w porównaniu z negatywną grupą kontrolną.

Wyższe stężenie wybranych minerałów (Zn, Fe, Ca) w osoczu krwi u kurcząt brojlerów z grupy doświadczalnej z fitazą być może wywołało odpowiedź osi somatotropinowej. Cynk odgrywa ważną rolę w proliferacji i różnicowaniu komórek poprzez syntezę hormonu wzrostu. Bierze udział w wytwarzaniu

osteokalcyny i fosfatazy alkalicznej, która zapewnia odkładanie się wapnia w kościach. Stwierdzono również, że cynk wpływa na poziom leptyny w surowicy i stymuluje aktywację IGF-1, somatomedyny, która działa w odpowiedzi na stymulację hormonem wzrostu. W przedstawionym doświadczeniu obecność cynku zwiększyła poziom hormonu wzrostu, IGF-I i leptyny. Włączenie fitazy doprowadziło do dalszego wzrostu hormonu wzrostu oraz leptyny. Wskazuje to na pozytywny wpływ włączenia fitazy do diety o niskiej zawartości cynku na wzrost i rozwój poprzez pośrednią poprawę aktywności osi somatotropinowej, ponieważ homeostaza kości i chrząstki jest regulowana przez hormon wzrostu działający przez IGF-1, który stymuluje proliferację.

Podsumowując, badania opisane w pracy (**O.2**) są pierwszymi badaniami, w których wpływ podawania cynku w paszy w dawkach niższych niż rekomendowane oceniano u drobiu nie tylko na podstawie pomiarów osteometrycznych i wytrzymałościowych kości oraz pomiarów histomorfometrycznych kości beleczkowej, ale również analiz histomorfometrycznych chrząstki stawowej i wzrostowej oraz zmian osi somatotropinowej.

Celem kolejnego badania, którego wyniki przedstawiono w pracy (**O.3**), było określenie parametrów histologicznych, mechanicznych i składu mineralnego kości piszczelowo-stępowej oraz wybranych hormonów zaangażowanych w ogólny wzrost i rozwój kości u samców brojlerów Ross 308, którym podano organiczną formę miedzi z dodatkiem fitazy (500 FTU) lub bez niej. Zastosowana dawka miedzi w formie organicznego kompleksu aminokwasowego (Cu-Gly) została obniżona do poziomu 25% rekomendowanej ilości w mieszance paszowej (4 mg/kg paszy).

Doświadczenie przeprowadzono na 120 jednodniowych kurczętach rasy Ross 308, podzielonych na grupę kontrolną pozbawioną miedzi w premiksie paszowym oraz grupy karmione paszą o obniżonym poziomie miedzi (4 mg/kg paszy, 25% całkowitej zalecanej dziennej ilości dla brojlera Ross 308) w postaci organicznego kompleksu aminokwasowego(Cu-Gly) z dodatkiem fitazy (500 FTU) lub bez. W każdej grupie było 40 ptaków w 4 powtórzeniach po 10 osobników.

Podobnie jak w poprzednich badaniach, oceniono wpływ badanego mikroelementu na wytrzymałość mechaniczną kości oraz wykonano ocenę histologiczną chrząstki wzrostowej i stawowej. W surowicy krwi oznaczono stężenia Ca, P, i Cu oraz oznaczono stężenie hormonu wzrostu, osteokalcyny, leptyny oraz IFG-1. Przeprowadzono również analizę zawartości Cu, Ca i P w kościach.

Obecność samej miedzi w premiksie nie wpłynęła na przyrost masy ciała kurcząt, gdyż większe przyrosty obserwowano w grupie suplementowanej miedzią oraz egzogenną fitazą. Podobne wyniki otrzymano dla kości (masa, długość oraz ich wzajemny stosunek będący miarą gęstości kości). Obecność miedzi w diecie miała jednak wpływ na cechy osteometryczne trzonu kości (zwiększenie średnic horyzontalnych i wertykalnych, pola przekroju poprzecznego, objętości trzonu), chociaż zmiany te były większe w grupie dodatkowo suplementowanej fitazą. W następstwie zmiany średnic przekroju poprzecznego trzonu doszło do zmian wyznaczonych na ich podstawie wskaźników strukturalnych kości (wtórny moment bezwładności, promień bezwładności). Wskazuje to na większą dojrzałość badanych kości. Zawartość składników mineralnych w kościach (Cu, Ca, P) oraz popiołu surowego była również

istotnie wyższa w tych grupach doświadczalnych. Interesujące wyniki otrzymano analizując dane doświadczalne uzyskane podczas testu trójpunktowego zginania. Wartość siły sprężystej, siły krańcowej oraz momentu gnącego (określającego obciążenie przypadające na jednostkę długości odkształcanej kości) były istotnie wyższe jedynie w grupie suplementowanej miedzią w obecności egzogennej fitazy. Jednak wartości wyliczonych naprężeń panujących w kości podczas odkształcenia (odkształcenie graniczne oraz wytrzymałość na zginanie) w obu grupach suplementowanych miedzią były jednakowe i istotnie niższe niż w grupie kontrolnej. Podsumowując wyniki analiz testów mechanicznych, można przyjąć, że poziom zawartości miedzi w diecie, który może prowadzić do poprawy wytrzymałości mechanicznej kości, jest znacznie mniejszy niż rekomendowany.

Analiza histomorfometryczna nasady wykazała pozytywny wpływ miedzi na mikrostrukturę kości beleczkowej (objętość beleczek kostnych, grubość beleczki kostnej, wielkość przestrzeni międzybeleczkowej), chociaż do zwiększenia liczby beleczek doszło po dodatkowym włączeniu do diety fitazy. W grupach doświadczalnych zaobserwowano pogrubienie chrząstki stawowej oraz wyraźne pogrubienie chrząstki wzrostowej, chociaż zmiana grubości poszczególnych stref była zależna często od obecności fitazy. Doszło również do zwiększenia liczby proteoglikanów oraz ilości włókien niedojrzałego, młodego kolagenu w chrząstce stawowej. Proteoglikany zapewniają stabilność chrząstki stawowej, a degradacja proteoglikanów prowadzi do destabilizacji sieci kolagenu. Informacje uzyskane z analizy włókien kolagenowych ujawniły różnicę pomiędzy grubymi (dojrzałymi, o kolorze czerwono-pomarańczowym) i cienkimi (niedojrzałymi, zielonymi) włóknami kolagenowymi. Suplementacja Cu (niezależnie od dodatku fitazy) zwiększyła ilość niedojrzałego kolagenu w chrząstce stawowej.

Dodanie fitazy do diety ubogiej w miedź dla brojlera Ross 308 zwiększyło stężenie osteokalcyny w porównaniu z innymi grupami, podczas gdy stężenie IGF-1 wzrosło tylko w porównaniu do grupy kontrolnej. Rodzaj diety nie wpłynął na stężenie hormonu wzrostu i leptyny.

Badanie opisane w pracy (**O.3**) jest pierwszym, w którym analizowano zarówno mechaniczne właściwości kości, jak i histomorfometrię kości gąbczastej i chrząstki szklistej u drobiu żywionego dietą pozbawioną miedzi, lub o niskim poziomie miedzi z dodatkiem fitazy lub bez. Niezależnie od obecności fitazy, organiczna forma miedzi może prowadzić do zmian w obrębie chrząstki stawowej, na co wskazuje przeprowadzona analiza morfologiczna oraz zawartość proteoglikanów. Suplementacja fitazą prawdopodobnie wykazała korzystny wpływ na różnicowanie chondrocytów, wpływając na ich proliferację i utrzymując ich wrażliwość na czynniki wzrostu, takie jak IGF-1. Dodatek fitazy wpłynął na architekturę kości beleczkowej, oraz generalnie poprawił wzrost i rozwój kości piszczelowo-stępowej. Poprawa struktury chrząstki stawowej może pozytywnie wpłynąć na stabilność i zdolność chrząstki do amortyzacji obciążeń w stawie. Ponadto przedstawione w pracy analizy osteometryczne kości i histologiczne chrząstek wskazują, że kości kurcząt z grupy pozbawionej dodatku miedzi miały zredukowane wymiary geometryczne trzonu oraz najmniej rozwinięte chrząstki. Wyniki te sugerują, że ich obniżona wytrzymałość mechaniczna mogła być następstwem wadliwej proliferacji oraz mineralizacji wewnątrz stref chrząstki wzrostowej.

Podsumowując, badania opisane w pracy (**O.3**) są pierwszymi badaniami, w których wpływ podawania miedzi oceniano u szybkorosnących kurcząt nie tylko na podstawie pomiarów wytrzymałościowych kości ale też pomiarów histomorfometrycznych (kości beleczkowej i chrząstek szklistych) oraz zmian osi somatotropinowej.

Określenie wpływu źródła białka w diecie kurcząt na homeostazę tkanki kostnej oraz właściwości fizyczne ścięgien.

Poekstrakcyjna śruta sojowa, powszechnie używane pierwotne źródło białka w paszy, często uzyskiwana jest z przetwarzania genetycznie zmodyfikowanych odmian. Ze względu na zbliżające się embargo stosowania GMO w paszach dla zwierząt, trwają poszukiwania alternatywnych źródeł białka, które można wprowadzić do diety zwierząt. Nasiona bobiku (*Vicia faba* L. minor) mogą być dobrym składnikiem białkowo-energetycznym w żywieniu zwierząt monogastrycznych, w tym drobiu, ze względu na ich skład chemiczny: wysoką zawartość białka (26-30%) oraz wysokie stężenie skrobi (40%). Z drugiej strony, negatywną cechą nasion bobiku jest obecność substancji antyżywieniowych, takich jak lektyny, alkaloidy, saponiny, kwas fitynowy, polisacharydy nieskrobiowe, inhibitory enzymów i taniny, które mogą ograniczać wchłanianie składników odżywczych. Istnieją doniesienia wskazujące, że roślinne substancje antyżywieniowe mogą zmniejszać wchłanianie wapnia lub fosforu, wpływając tym samym na rozwój kości.

Ponieważ źle zbilansowana dieta pod względem składu białkowego, ilości aminokwasów endogennych i egzogennych i ich wzajemnych proporcji może prowadzić do zaburzeń rozwoju elementów układu ruchu a nie ma informacji na temat wpływu zmiany źródła białka na rozwój kości u kurcząt brojlerów celem doświadczenia, którego wyniki przedstawiono w pracy (**O.4**), było zbadanie wpływu różnych poziomów surowych nasion bobiku nisko taninowego na rozwój kości u brojlerów.

Doświadczenie przeprowadzono na 96 jednodniowych brojlerach kurzych Ross 308. Ptaki losowo podzielono na 3 grupy (po 32 ptaki w 8 powtórzeniach po 4 osobniki w każdej grupie). Grupę kontrolną żywiono paszą standardową na bazie poekstrakcyjnej śruty sojowej, a grupy doświadczalne żywiono paszą, w której śrutę sojową częściowo zamieniono surowymi nasionami bobiku nisko taninowego w ilości 8%/15% (grupa I) oraz 16%/22% (grupa II) w okresie 2 kolejnych etapów cyklu produkcyjnego. Odpowiada to zastąpieniu białka sojowego odpowiednio w ilościach 10%/20% i 20%/30%.

Obecność surowych nasion bobiku nisko taninowego w diecie spowodowała redukcję wartości parametrów geometrycznych kości. W obu grupach doświadczalnych doszło do zmniejszenia pola przekroju poprzecznego trzonu kości. W grupie II stwierdzono zmniejszenie masy kości oraz wartości indeksu korowego w trzonie kości. W porównaniu z grupą kontrolną wartości części parametrów wytrzymałościowych kości były wyższe w grupie I (odkształcenie sprężyste, odkształcenie graniczne, moduł Younga) oraz niższe w grupie II (siła sprężysta, siła krańcowa). W grupie II zawartość popiołu

surowego, stosunek popiołu do objętości kości, gęstość objętościowa kości praz zawartość fosforu były wyższe, natomiast stosunek Ca/P był niższy niż w grupie kontrolnej. W grupie I stężenie P wzrosło, a stosunek Ca/P zmniejszył się w porównaniu do grupy kontrolnej. Gęstość mineralna kości oraz zawartość mineralna w całej kości, części dystalnej i środkowej zmniejszyła się w grupie II w porównaniu grupą kontrolną. W grupie I zmniejszeniu uległa tylko zawartość mineralna kości w części dystalnej. Istniały również istotne statystycznie różnice pomiędzy obiema grupami doświadczalnymi. W grupie I stwierdzono niższą zawartość popiołu surowego, oraz wyższą gęstość mineralną kości w całej kości i trzonie jak też zawartość mineralną w trzonie kości. Chociaż u ptaków żywionych większą ilością surowych nasion bobiku stwierdzono lżejsze kości piszczelowo-stępowe oraz analiza geometryczna wykazała zmniejszenie pola przekroju poprzecznego i grubości ściany trzonu kości, co miało wpływ na parametry densytometryczne i wyniki testów mechanicznych, nie miały one widocznych uszkodzeń nóg ani problemów z funkcją lokomotoryczną.

Wchłanianie podstawowych składników mineralnych i odżywczych w przewodzie pokarmowym, zależy od jego poprawnej budowy, a prawidłowe ich funkcjonowanie jelit jest niezbędne do zrównoważonego rozwoju kości, przez co odgrywają kluczową rolę w procesie mineralizacji szkieletu. Inne analizy opisane w pracy (**O.4**) sugerują, że włączenie surowych nasion nisko taninowego bobiku do diety miało negatywny wpływ na strukturę i funkcję przewodu pokarmowego, w rezultacie nie było możliwe utrzymanie metabolizmu kości na optymalnym poziomie. Dlatego też, chociaż nasiona bobiku mogą być alternatywnym źródłem białka, wprowadzenie ich do diety drobiu nie zapewnia podobnego rozwoju kości, jak w przypadku diety opartej wyłącznie na poekstrakcyjnej śrucie sojowej.

Podsumowując, badania opisane w pracy (**O.4**) są pierwszymi badaniami, w których wpływ źródła białka w diecie oceniano u kurcząt brojlerów równocześnie na podstawie analiz osteometrycznych, densytometrycznych i wytrzymałościowych kości i powiązano te analizy ze zmianą budowy histologicznej jelita cienkiego.

Celem badań, których rezultaty opisano w pracy (**O.5**), była ocena wpływu innego zamiennika poekstrakcyjnej śruty sojowej jako podstawowego źródła białka w diecie kurcząt, surowych nasion ciecierzycy, na właściwości fizyczne ścięgien. Nasiona ciecierzycy (*Cicer arietinum* L.) opisywane są jako odpowiedni zamiennik poekstrakcyjnej śruty sojowej w paszy zwierząt monogastrycznych, ponieważ jakość białka z ciecierzycy została opisana jako porównywalna do białka sojowego. Ponadto, w porównaniu do soi, ciecierzyca zawiera stosunkowo niewielkie ilości inhibitorów trypsyny i chymotrypsyny. Niemniej jednak ciecierzyca, podobnie jak inne rośliny strączkowe, zawiera również wiele czynników antyżywieniowych, które pogarszają wchłanianie składników odżywczych i mogą mieć negatywny wpływ na wzrost zwierząt.

Dodatkową przesłanką do podjęcia badań, których wyniki przedstawiono w pacy (**O.5**), był fakt, że brak jest jakichkolwiek informacji i prac badawczych na temat tego, czy źródło białka może wpływać na właściwości fizyczne ścięgien. W tym celu podjęto próbę nie tylko określenia ich właściwości wytrzymałościowych, ale też powiązania tych wyników z wynikami analizy termicznej.

W doświadczeniu użyto 160 jednodniowych kurzych brojlerów Ross 308, które podzielono na dwie grupy: kontrolną, żywioną dietą opartą na poekstrakcyjnej śrucie sojowej oraz grupę doświadczalną, w której śrutę sojową w całości zastąpiono surowymi nasionami ciecierzycy. Obie grupy liczyły po 80 ptaków podzielonych na 4 powtórzenia po 20 osobników. Po 42 dniach 8 ptaków z każdej grupy (po 2 osobniki z każdego powtórzenia) poddano eutanazji. Wszystkie wybrane ptaki były klinicznie zdrowe i nie wykazywały żadnych problemów związanych z ruchem oraz nie stwierdzono zmian patologicznych w budowie i zakresie ruchów w stawie z okolic którego pobrano ścięgna.

Wprowadzenie do diety w miejsce poekstrakcyjnej śruty sojowej surowych nasion ciecierzycy nie wpłynęło na końcową masę brojlerów oraz rozmiary badanych ścięgien. Test jednoosiowego rozciągania wykazał brak różnic w wartościach siły zrywającej, sztywności, odkształcenia granicznego i modułu sprężystości Younga. Brak różnic w wyznaczonych parametrach mechanicznych sugeruje, zdolność ścięgien do przenoszenia sił nie uległa zmianie. Jednak wyznaczona wartość pracy potrzebnej do zerwania ścięgien oraz ich wytrzymałość na rozciąganie u ptaków z grupy doświadczalnej była statystycznie wyższa. Również analiza DSC ujawniła istnienie różnic w wartości całkowitej entalpii przemiany oraz temperatury początku termicznej denaturacji kolagenu w ścięgnach pobranych od ptaków żywionych surowymi nasionami ciecierzycy.

Wnioski, jakie wysunięto z obu przeprowadzonych analiz, były spójne. Zmiany obserwowane w przebiegu procesu denaturacji kolagenu wskazują na zmianę organizacji wiązek kolagenu w ścięgnach ptaków z grupy doświadczalnej (obniżenie temperatury denaturacji) oraz ich gęstsze upakowanie (wzrost całkowitej entalpii). Bardziej zwięzłe ścięgno jest w stanie zaabsorbować więcej energii, gdy poddawane jest działaniu siły zewnętrznej, co potwierdził wzrost pracy (energii) potrzebnej do zerwania ścięgna. Wzrost wytrzymałości na rozciąganie wskazuje natomiast, że wiązki kolagenu w ścięgnach brojlerów żywionych nasionami ciecierzycy są bardziej oporne na mikropęknięcia. Ponieważ nie stwierdzono różnic w ciężarze ptaków czy zmian patologicznych w budowie stawu, zmiany te nie mogły być następstwem większego obciążenia mechanicznego ścięgien, a najprawdopodobniej są następstwem zmiany źródła białka w diecie.

Podsumowując, badania opisane w pracy (**O.5**) są pierwszymi badaniami właściwości fizycznych ścięgien u drobiu po zmianie źródła białka.

Określenie wpływu hipogonadyzmu na cechy osteometryczne i wytrzymałościowe kości kapłonów.

Fizjologicznie największy przyrost masy kostnej ma miejsce okresie wzrostu i dojrzewania płciowego organizmu, jest on więc ściśle związany z rozwojem gruczołów płciowych i ich aktywnością. Kapłony to koguciki poddane chirurgicznej kastracji zanim osiągną dojrzałość płciową w celu poprawy jakości ich mięsa. W wyniku kastracji samców dochodzi do zmian ogólnego metabolizmu ustroju jak i syntezy białka, co wpływa na kości, ich mineralizację w okresie wzrostu i dojrzewania oraz utrzymanie homeostazy tkanki kostnej w późniejszym czasie.

Brak jest szczegółowych badań pokazujących wpływ hormonów gonadalnych wykazujących działanie anaboliczne na tkankę kostną u samców drobiu poddanych kastracji. Chociaż istnieją badania pokazujące wpływ kapłonowania na mineralizację kości czy podstawowe parametry wytrzymałościowe, brak jest analiz cech strukturalnych kości oraz wytrzymałości materiałowej tkanki kostnej. Warto zatem podkreślić, że po raz pierwszy, nie tylko w Polsce, w ocenie wytrzymałości kości kapłonów zastosowano tak szczegółowe analizy mechaniczne, jak w omawianej pracy (**O.6**).

Celem badań przedstawionych w pracy (**O.6**) było określenie wpływu kapłonowania na cechy osteometryczne i wytrzymałościowe kości u kurcząt wolnorosnących. Badaniom poddano koguty i kapłony rasy Polbar. Do doświadczania przeznaczono łącznie 100 ptaków, z których pięćdziesiąt w 8 tygodniu życia poddano zabiegowi chirurgicznej kastracji. Ptaki utrzymywano do wieku 24 tygodni, następnie 10 ptaków z każdej grupy poddano eutanazji w celu pobrania kości udowej i piszczelowo-stępowej.

Rezultaty doświadczenia wykazały, że pomimo wyższej końcowej masy ciała u kapłonów, zabieg kapłonowania nie wpłynął na masę i długość badanych kości. Stwierdzono jednak szereg istotnych różnic w budowie geometrycznej kości oraz w badanych parametrach wytrzymałościowych. Analiza osteometryczna wykazała, że trzony kości kapłonów posiadały większe średnice oraz pole przekroju poprzecznego. Różnice w rozmiarze przekroju poprzecznego trzonu spowodowały istotne różnice w wyznaczonych na ich podstawie wskaźnikach strukturalnych: wtórnym momencie bezwładności i promieniu bezwładności. Kapłonowanie skutkowało obniżeniem zakresu dopuszczalnych sił odkształcenia sprężystego (wartość siły sprężystej), co przy niezmienionej wartości siły krańcowej oznacza powiększenie zakresu deformacji plastycznych. Na pozostałe wyznaczone parametry strukturalne (sztywność, energia sprężysta i praca do zniszczenia) kapłonowanie nie miało wpływu. Trzony obu badanych kości u kapłonów charakteryzowały się mniejszą zawartością mineralną (BMC) oraz gęstością tkankową (BTD). Kości te miały też niższą zawartość fosforu (w kości piszczelowo-stępowej również wapnia) oraz popiołu. Wyniki te wskazują na negatywny wpływ kapłonowania na mineralizację kości, zwłaszcza w obszarze trzonu.

Wykonana analiza właściwości materiałowych kości wykazała, że kości kogutów i kapłonów w sposób istotny różniły się między sobą pod względem wytrzymałości mechanicznej. Wyraźne zmniejszenie wartości modułu sprężystości Younga u kapłonów oznacza, że z punktu widzenia wytrzymałości materiałów łatwiej ulegają one odkształceniom po przyłożeniu do nich siły zewnętrznej. Mniejsza wartość siły sprężystej, przy niezmienionej długości kości, sprawiła, że obniżeniu uległ moment gnący kości piszczelowo-stępowej, określający obciążenie przypadające na jednostkę długości odkształcanej kości. Mimo to ugięcie, jakiego doznawała kość przy przyłożeniu tej siły, było wyraźnie większe (wzrost odkształcenia sprężystego). Również rejestrowany zakres odkształcenia sprężystego kości udowej był większy u kapłonów.

Ważnej informacji dostarczyła też analiza naprężeń. Obniżenie granicy sprężystości (graniczne naprężenie sprężyste) oznacza, że kości kapłonów nie tyko uginały się w większym stopniu, ale siły

wewnętrzne (naprężenie), jakie panowały podczas uginania, były w nich niższe niż w kościach kogutów. To również świadczy o zwiększonej podatności kości kapłonów na odkształcenie. Niższa u kapłonów była też wytrzymałość na zginanie określająca naprężenie w chwili przyłożenia siły krańcowej. Tak więc, chociaż siła, przy której kości kapłonów i kurcząt uległy pęknięciu (siła krańcowa), była jednakowa, to do złamania kości kapłonów dochodziło przy wyraźnie niższym naprężeniu wewnętrznym kości.

Podsumowując, w badaniach opisanych w pracy (**O.6**) wykazano po raz pierwszy, że chociaż hipogonadyzm miał negatywny wpływ na mineralizację trzonu kości i ich sprężystość oraz pomimo faktu, że masa ciała kapłonów była wyższa niż kogutów i względny udział kości piszczelowo-stępowej oraz udowej w całkowitej masie ciała uległ obniżeniu, zdolność obu kości do pełnienia funkcji podporowo-nośnej nie uległa istotnemu pogorszeniu prawdopodobnie dzięki zmianom kompensacyjnym w geometrii kości. Przypuszczalnie, efekt ten nie byłby możliwy do zaobserwowania u szybkorosnących kurcząt brojlerów.

Podsumowanie

Podsumowując, należy podkreślić, że dotychczas u drobiu nie prowadzono badań w podobnym zakresie oraz z wykorzystaniem tak różnorodnych technik badawczych, dlatego uzyskane wyniki należy uznać za oryginalne i nowatorskie. Poszerzają one nie tylko wiedzę na temat wpływu czynników żywieniowych i hormonalnych na metabolizm tkanki kostnej i funkcjonowanie aparatu ruchu u drobiu, ale także są istotne w aspekcie dobrostanu zwierząt, który obejmuje również troskę o ukształtowanie kośćca zapewniającego prawidłowe i bezbolesne poruszanie.

Wnioski

1. Podawanie cynku w formie nieorganicznej na poziomie niższym niż ilość rekomendowana wywołuje negatywne zmiany mikroarchitektury kości beleczkowej kości piszczelowo-stępowej wskazujące na większą podatność na deformacje przy zwiększającej się w trakcie rozwoju masie ciała ptaka. Miedź i cynk podawane w formie organicznej w ilości niższej niż rekomendowana w żywieniu kurcząt brojlerów nie wykazują negatywnego wpływu na rozwój kości piszczelowo-stępowej, która, jak wykazały badania, jest modelową w ocenie stopnia rozwoju układu kostnego drobiu.
2. Homeostaza tkanki kostnej jest uwarunkowana rodzajem źródła białka w diecie. Wprowadzenie do diety brojlerów kurzych nasion bobiku nie zapewnia optymalnego rozwoju kości, jak w przypadku diety opartej wyłącznie na poekstrakcyjnej śrucie sojowej. Natomiast dieta zawierająca nasiona ciecierzycy nie wpłynęła negatywnie na funkcjonalność ścięgien jako jednego z elementów aparatu ruchu. Wykazano również, że wytrzymałość mechaniczna ścięgien jest modulowana przez rodzaj diety.
3. Zwiększenie obciążenia kości piszczelowo-stępowej, wynikające z większych przyrostów masy ciała, będącej konsekwencją zaburzeń gospodarki hormonalnej u hipogonadalnych samców, wywołało

zmiany kompensacyjne w jej geometrii, dzięki czemu, pomimo gorszej mineralizacji i mniejszej sprężystości, wykazywała ona taką samą odporność na złamania jak kość kogutów.

Piśmiennictwo

Bampidis, V., and V. Christodoulou. 2011. Chickpeas (Cicer arietinum L.) in animal nutrition: A review. Anim. Feed. Sci. Technol. 168: 1-20.

Bradshaw, R., R. Kirkden, and D. Broom. 2002. A review of the aetiology and pathology of leg weakness in broiler in relation to welfare. Avian Poult. Biol.Rev. 13: 45-103.

Burr, D. B. 2002. The contribution of the organic matrix to bone's material properties. Bone, 31: 8-11.

Chen, K. L., M.H. Chang, S. M. Tsay, H. Y. Hurng, and P. W. S. Chiou. 2006. Effects of caponization on bone characteristics and histological structure in chickens. Asian Australas. J. Anim. Sci. 19: 245-251.

Chen, K.L., S.M. Tsay, T.Y. Lee, and P.W.S. Chiou. 2006. Effects of caponization and different exogenous androgen on the bone characteristics of male chicken. Poult. Sci. 85: 1975-1979.

Cook, M. E. 2000. Skeletal deformities and their cause: introduction. Poult. Sci. 79: 982-984.

Currey, J. D. 1984. Mechanical Adaptations of Bones. Princeton University Press, Princeton.

Ferretti, J. L., G. R. Cointry, R. F. Capozza, R. Capiglioni, and M. A. Chiappe. 2001. Analysis of biomechanical effects on bone and on the muscle-bone interactions in small animal models. J. Musculoskelet. Neuronal Interact. 1: 263-274.

Greiner, R. and U. Konietzny. 2010. Phytases: Biochemistry, enzymology and characteristics relevant to Animal feed use. W: Enzymes in Farm Animal Nutrition. Bedford MR, Partridge G., ed., Wallingord: CABI Publishing.

Hadley, K. B., Newman, S. M, and J. R. Hunt. 2010. Dietary zinc reduces osteoclast resorption activities and increases markers of osteoblast differentiation, matrix maturation, and mineralization in the long bones of growing rats. J. Nutr. Biochem. 21: 297-303.

Hambride, K. M., Casey. C. E., and N. F. Krebs. 1986. Zinc. W: Trace elements in human and animal nutrition. Mertz W. ed, Orlando: Academic Press.

Iqbal, M., P. B. Kenney, N. H. Al-Humadi, and H. Klandorf. 2000. Relationship between mechanical properties and pentosidine in tendon: effects of age, diet restriction, and aminoguanidine in broiler breeder hens. Poult. Sci. 79: 1338-1344.

Kijowski, J. M., and M. G. Mast. 1988. Thermal properties of proteins in chicken broiler tissues. J. Food Sci. 53: 363-366.

Knowles, T. G., S. C. Kestin, S. M. Haslam, S. N. Brown, L. E. Green, A. Butterworth, S. J. Pope, D. Pfeiffer, and C. J. Nicol. 2008. Leg disorders in broiler chicken: prevalence, risk factors and prevention, PLoS One. 3: e1545.

Lowe, N. M., Lowe, N.M., Fraser, W.D., and M. J. Jackson. 2002. Is there a potential therapeutic value of copper and zinc for osteoporosis? Proc. Nutr. Soc. 61: 181-185.

Maret, W., and H. H. Sandstead. 2006. Zinc requirements and the risks and benefits of zinc supplementation. J. Trace Elem. Med. Biol. 20: 3-18.

Moschini, M., Masoero, F., Prandini, A., Fusconi, G., Morlacchini, M., and G. Piva. 2005. Raw Pea (Pisum sativum), raw Faba bean (Vicia faba var. minor) and raw Lupin (Lupinus albus var. multitalia) as alternative protein sources in broiler diets. Ital. J. Anim. Sci. 4: 59-70.

National Research Council. 1994. Nutrient requirements of poultry. 9th edn. Washington: National Academic Press.

Opsahl, W., Zeronian, H., Ellison, M., Lewis, D., Rucker, R. B., and R. S. Riggins. 1982. Role of copper in collagen cross-linking and its influence on selected mechanical properties of chick bone and tendon. J. Nutr. 112: 708-716.

Park, S. Y., Birkhold, S. G., Kubena, L.F., Nisbet, D.J., and S. C. Ricke. 2004. Review on the role of dietary zinc in poultry nutrition, immunity, and reproduction. Biol. Trace Elem. Res. 101: 147-163.

Rath, N. C., Huff, G. R., Huff, G.E., and J. M. Balog. 2000. Factors regulating bone maturity and strength in poultry. Poult. Sci. 79: 1024-1032.

Riggins, R. S., Cartwright, A.G., and R. B. Rucker. 1979. Viscoelastic properties of copper deficient chick bone. J. Biomech. 12: 197-203.

Ross 308 Broiler Nutrition Specification. 2014. Huntsville: Aviagen Incorporated Publishing.

Schlegel, P., Sauvant, D., and C. Jondreville. 2013. Bioavailability of zinc sources and their interaction with phytates in broilers and piglets. Animal 7: 47-59.

Shams Shargh, M., and M. Ahani Azari. 2010. Determination of the optimum inclusion level of faba beans in diet of broiler chicks. Indian J. Anim. Sci. 80: 940-942.

Sroga, G. E., and D. Vashishth. 2012. Effects of bone matrix proteins on fracture and fragility in osteoporosis. Curr. Osteoporos. Rep. 10: 141-150.

Suttle, N.F. 2010. The mineral nutrition of livestock, 4th edn., Oxfordshire: CABI Publishing.

Wang, X., Fosmire, G. J., Gay, C.V., and R. M. Leach. 2002. Short-term zinc deficiency inhibits chondrocyte proliferation and induces cell apoptosis in the epiphyseal growth plate of young chickens. J. Nutr. 132: 665-673.

Wang, X., R. A. Bank, J. M. TeKoppele, and C. M. Agrawal. 2001. The role of collagen in determining bone mechanical properties. J. Orthop. Res. 19: 1021-1026.

Yamaguchi, M. 2010. Role of nutritional zinc in the prevention of osteoporosis. Mol. Cell. Biochem. 338: 241-254.

Yanagishita, M. 1993. Function of proteoglycans in the extracellular matrix. Acta Pathol. Japan. 43: 283-293.

5. Omówienie pozostałych osiągnięć naukowo–badawczych

Cześć badań w których uczestniczyłem po otrzymaniu stopnia doktora stanowią badania z obszaru agrofizyki, obejmujących badanie właściwości fizycznych roślin (A2.2.1, B2.2.1) i produktów pochodzenia roślinnego (A2.2.2, A2.2.8, A2.2.11), biopolimerów otrzymywanych na bazie skrobi (A2.2.3, A2.2.6, A2.2.7, A2.2.8, A2.2.12, A2.2.13, A2.2.14, A2.2.16, A2.2.18), żywności (A2.2.4, A2.2.5, A2.2.15, B2.2.2) oraz gleb (A2.2.10, A2.2.17).

Jednak w ostatnich latach zaangażowałem się głównie w szereg badań, które podobnie jak przedkładane osiągnięcie naukowe, dotyczą głównie oceny właściwości mechanicznych, strukturalnych i funkcjonalnych elementów układu ruchu, zwłaszcza układu szkieletowego. Badania te można podzielić na 5 głównych obszarów.

Uczestniczyłem w badaniach nad wpływem suplementacji paszy miedzią w różnych postaciach na strukturę wybranych elementów układu szkieletowego przeprowadzonych na modelu szczurzym. Doświadczenia przeprowadzono na szczurach w różnym wieku. Badano wpływ różnych dawek miedzi w formie organicznego kompleksu aminokwasowego (Cu-Gly) lub w postaci nanocząstek (Cu-NP) na parametry biomechaniczne kości udowej oraz mikrostrukturę chrząstek. Badania przeprowadzono w porównaniu do nieorganicznych form miedzi ($CuSO_4$, $CuCO_3$) lub do diet pozbawionych suplementacji tym mikroelementem. Zakładano, że większa biodostępność miedzi w postaci organicznej lub nanocząstek może sprawiać, że już przy mniejszych dawkach pojawią się korzystne zmiany w strukturze chrząstek lub wytrzymałości mechanicznej kości. Na podstawie otrzymanych wyników stwierdzono, że miedź w formie organicznego kompleksu aminokwasowego, podawana w ilości pokrywającej 50% dziennego zapotrzebowania w paszy wystarczyła, aby parametry mechaniczne kości były porównywalne z obserwowanymi u dojrzałych szczurów żywionych paszą zawierającą miedź w pełnej dawce w formie nieorganicznej. Stwierdzono również, że dawka miedzi w formie organicznego kompleksu aminokwasowego, odpowiadająca 75% dziennego zapotrzebowania na miedź, okazała się najbardziej efektywna, gdyż prócz poprawy wytrzymałości mechanicznej zaobserwowano istotne zwiększenie objętość kości beleczkowej, wzrost zawartości proteoglikanów w chrząstce stawowej oraz zwiększenie grubości samej chrząstki. W innym doświadczeniu na młodych szczurach miedź w postaci organicznego kompleksu aminokwasowego nie wpływała jednak tak pozytywnie na wytrzymałość mechaniczną i mikrostrukturę kości, jak podawana w formie siarczanu miedzi, ale też nie doprowadziła do zahamowania rozwoju kości i chrząstki stawowej. Trzecie doświadczanie przeprowadzono również na dojrzewających szczurach, ale grupy doświadczalne stanowiły osobniki przyjmujące miedź w różnych dawkach w postaci nanocząstek lub węglanu miedzi, grupę kontrolną zaś stanowiły osobniki bez suplementacji diety tym mikroelementem. Preparat nanomiedzi zwiększał mechaniczną wytrzymałość kości badanych zwierząt nie tylko w stosunku do grupy kontrolnej, ale również w porównaniu z grupą suplementowaną miedzią w postaci soli węglanowej. Analiza XRD struktury krystalicznej mineralnej części kości wykazała, że w

grupach przyjmujących nanocząstki doszło do zwiększenia w kościach obecności innych niż hydroksyapatyt form krystalicznych fosforanu wapnia.

1) Tomaszewska E., Dobrowolski P., Kwiecień M., Winiarska-Mieczan A., Tomczyk A. **Muszyński S**. 2017. The influence of dietary Cu-glycine complex on histomorphology of cancellous bone, articular cartilage and growth plate, bone mechanical and geometric parameters is dose-dependent, Biological Trace Element Research, 178, 54-63.
2) Tomaszewska E., Dobrowolski P., Kwiecień M., Winiarska-Mieczan A., Tomczyk A., **Muszyński S.**, Gładyszewska B. 2017. Dose-dependent influence of dietary Cu-glycine complex on bone and hyaline cartilage development in adolescent rats, Annals of Animal Sciences, 17, 1089-1105.
3) Tomaszewska E., **Muszyński S.**, Ognik K., Dobrowolski P., Kwiecień M., Juśkiewicz J., Chocyk, D., Świetlicki M., Blicharski, T., Gładyszewska B. 2017. Comparison of the effect of dietary copper nanoparticles with copper (II) salt on bone geometric and structural parameters as well as material characteristics in a rat model, Journal of Trace Elements in Medicine and Biology, 43, 103-110.

Uczestniczyłem też w badaniach nad wpływem różnych dodatków paszowych, substancji i suplementów mających na celu ochronę lub wspomaganie rozwoju szkieletu. Badania dotyczyły też oceny skutków stosowania chloramfenikolu u świni. Podjęto też dalsze badania nad wpływem zabiegu kapłonowania na różnych rasach kogutków. Doświadczenia przeprowadzono na zwierzętach gospodarskich o zróżnicowanych kierunkach użytkowania: norkach, indykach, świniach, kurach. Wyniki tych badań przedstawiono w sześciu poniższych publikacjach. Do najważniejszych należy stwierdzenie, że zastosowanie bentonitu, skały osadowej zawierającej montmorylonit charakteryzujący się silnymi właściwościami absorpcyjnymi, ograniczyło mykotoksyczność deoksynivalenolu (DON), który, jak wykazano w innej pracy, wywołuje objawy osteopenii w kościach długich norek. W kolejnym doświadczeniu stwierdzono, że suplementacja diety indyków probiotykami (*L. lactis, L. casei, C. divergens, L. plantarum, S. cerevisiae*) może wywierać pozytywny wpływ na rozwój kośćca, jednakże wypływ ten jest zależny od dawki probiotyku. W kontynuowanych badaniach nad wpływem kapłonowania na właściwości szkieletu kapłonów potwierdzono, że zabieg ten upośledzał rozwój kości długich w zakresie geometrii, mechaniki i mineralizacji, chociaż zakres tych zmian zależny jest też od rasy kogutków poddanych kapłonowaniu. W doświadczeniu w którym badano wpływ chloranfenikolu, antybiotyku którego stosowanie u zwierząt produkcyjnych jest zakazane, stwierdzono, że nawet krótkotrwałe podawanie tego antybiotyku prowadzi do zaburzenia bariery jelitowej, czego skutkiem może być zakłócenie procesu trawienia i wchłaniania w jelicie (nie znane są skutki spożywania mięsa takich zwierząt przez ludzi).

1) Tomaszewska E., Dobrowolski P., **Muszyński S.**, Kostro K., Taszkun I., Żmuda, A., Blicharski T., Hułas-Stasiak M. 2017. DON-induced changes in bone homeostasis in mink dams, Journal of Veterinary Research, 61, 357-362.
2) Khudhur H.B., **Muszyński S.**, Szymańczyk S, Chałabis-Mazurek A., Kwasniewska A., Oniszczuk T., Kowal N., Ejtel M., Valverde Piedra J.L., Gładyszewska B. 2017. Zastosowanie granulatu skrobi termoplastycznej napełnianej wollastonitem i bentonitem do adsorpcji metali ciężkich z roztworów wodnych, Przemysł Chemiczny, 96 (11), 2256-2258.
3) Tomaszewska E., **Muszyński S.**, Dobrowolski P., Kostro K., Jakubczak A., Taszkun I., Żmuda A., Blicharski T., Kędzia P. 2016. Bentonite diminishes DON-induced changes in bone development in mink dams, Journal of Veterinary Research, 60, 349-355
4) Tomaszewska E., Kwiecień M., Dobrowolski P., Klebaniuk R., **Muszyński S.**, Olcha M., Blicharski T., Grela E.R. Dose-dependent effects of probiotic supplementation on bone characteristic and mineralization in female turkeys, Animal Production Science, DOI: 10.1071/AN16289

5) Tomaszewska E., Kwiecień M., **Muszyński S.**, Dobrowolski P., Kasperek K., Blicharski T., Jeżewska-Witkowska G., Grela E.R. 2017. Long-bone properties and development are affected by caponisation and breed in Polish fowls, British Poultry Science, 58, 312-218.
6) Klebaniuk R., Klebaniuk R., Tomaszewska E., Dobrowolski P., Kwiecień M., Burmańczuk A., Yanovych D., Zasadna Z., Szymańczyk S., Burmańczuk N., **Muszyński S.** 2018. Chloramphenicol-induced alterations in the liver and small intestine epithelium in pigs, Annals of Animal Sciences, DOI: 10.2478/aoas-2018-0001

Kolejne badania w których brałem udział dotyczyły sprawdzenia możliwości zastosowania kwasu 2-oksoglutarowego w celu ograniczenia lub eliminacji skutków ubocznych indukowanej osteopenii na modelu świni domowej. W pierwszym doświadczeniu badano wpływ kwasu 2-oksoglutarowego podawanego drogą pokarmową (w roztworze wodnym) zwierzętom poddanym fundektomii. Otrzymane wyniki wykazały, że suplementacja kwasem 2-oksoglutarowym w znaczącym stopniu redukowała objawy osteopenii i osteoporozy w obrębie kości długich i płaskich. Zaobserwowano również ochronne działanie kwasu 2-oksoglutarowego w stosunku do chrząstek stawowych i wzrostowych. W kolejnej pracy przedstawiono wyniki zastosowania kwasu 2-oksoglutarowego w celu ograniczenia lub eliminacji skutków ubocznych stosowania glikokortykoidów. Badania przeprowadzono, indukując u zwierząt osteopenię przez domięśniowe podawanie glikokortykoidu (deksametazonu), podczas gdy kwas 2-oksoglutarowy podawany był drogą pokarmową. Stwierdzono, że kwas 2-oksoglutarowy zmniejszał, a w przypadku niektórych parametrów nawet odwracał niekorzystne odziaływanie glikokortykoidu. Ponadto zapobiegał utracie masy kości i skróceniu ich długości, poprawiał właściwości geometryczne oraz właściwości struktury mikroskopowej, co przekładało się na poprawę wytrzymałości mechanicznej.

1) Tomaszewska E., Dobrowolski P., Prost Ł., Hułas-Stasiak M., **Muszyński S.**, Blicharski T. 2016. The effect of supplementation of glutamine precursor on the growth plate, articular cartilage and cancellous bone in fundectomy-induced osteopenic bone, The Journal of Veterinary Medical Science, 78 (4), 563-571.
2) Dobrowolski P., Tomaszewska E., Blicharski T., **Muszyński S.**, Pierzynowski S.G. 2017. Dietary 2-oxoglutarate prevents bone loss caused by neonatal treatment with maximal dexamethasone dose, Experimental Biology and Medicine, 242, 671-682.

Następny obszar moich badań nad układem szkieletowym dotyczył wpływu metali ciężkich (kadmu i ołowiu) na metabolizm tkanki kostnej oraz efektywność zastosowania ekstraktów herbat lub kwasu taninowego w celu ograniczenia lub eliminacji skutków pobierania tych pierwiastków drogą pokarmową. Doświadczenia przeprowadzono na rosnących i dojrzałych szczurach laboratoryjnych. Wykazano negatywny wpływ badanych metali ciężkich na strukturę histologiczną kości beleczkowej oraz właściwościach mechaniczne i geometryczne kości długich. Ponadto u młodszych zwierząt zaobserwowano spadek gęstości mineralnej kości. Ochronny wpływ badanych ekstraktów herbat był niewielki. U dorosłych szczurów kwas taninowy wykazał efekt protekcyjny, zależny od stosowanej dawki stosowanej, przy czym najsilniejszy jego wpływ zaobserwowano w obszarze chrząstki stawowej, gdzie ograniczył stopień redukcji jej grubości. U szczurów młodych kwas taninowy nie miał aż takiego wpływu na chrząstkę stawową, ale eliminował skutki działania metali ciężkich na wytrzymałość mechaniczną kości.

1) Tomaszewska E., Dobrowolski P., Winiarska-Mieczan A., Kwiecień M., Tomczyk A., **Muszyński S.**, Radzki R. 2016. Alteration in bone geometric and mechanical properties, histomorphometrical parameters of trabecular bone, articular cartilage, and growth plate in adolescent rats after chronic co-exposure to cadmium and lead in the case of supplementation with green, black, red and white tea, Environmental Toxicology and Pharmacology, 46, 36-44.
2) Tomaszewska E., Dobrowolski P., Winiarska-Mieczan A., Kwiecień M., Tomczyk A., **Muszyński S.** 2017. The effect of tannic acid on the bone tissue of adult male Wistar rats exposed to cadmium and lead, Experimental and Toxicologic Pathology 69, 131-141.
3) Tomaszewska E., Dobrowolski P., Winiarska-Mieczan A., Kwiecień M., Tomczyk A., **Muszyński S.** 2017. The effect of tannic acid on bone mechanical, and geometric properties, bone density, trabecular histomorphometry as well as the morphology of articular and growth cartilages in rats co-exposed to cadmium and lead is dose-dependent, Toxicology and Industrial Health, 33, 855-866.

Inną ważną częścią mojej pracy naukowej był udział w badaniach nad prenatalnym programowaniem, w których również koncentrowałem się na badaniach metabolicznych zmian w obszarze tkanki kostnej. W większości doświadczeń skupiano się głównie na wpływie suplementacji diety ciężarnej samicy kwasem β-hydroksy-β-metylomasłowym (HMB), ale w niektórych przypadkach stosowano także kwas 2-oksoglutarowy lub deksametazon. Badania przeprowadzono ma modelu norki, myszy kolczystej oraz świni domowej, a wyniki opublikowano w serii 6 poniższych artykułów. Rezultaty przeprowadzonych badań wskazują na silny efekt prenatalnego podawania badanych substancji zarówno na potomstwo, jak i na matki. W doświadczaniu wykonanym na norkach wykazano, że kwas 2-oksoglutarowy silniej wpływał (zarówno sam, jak i w połączeniu z HMB) na właściwości mechaniczne i geometryczne kości wieloródek niż w przypadku pierwiastek. Również w przypadku potomstwa silniejszy pozytywny wpływ obu suplementów (HMB i kwasu 2-oksoglutarowego) zaobserwowano u osobników urodzonych przez wieloródki. W doświadczeniach przeprowadzonych na myszy kolczystej wykazano wpływ HMB na względną masę organów wewnętrznych noworodków, ponadto efekt działania HMB zależał od okresu podawania badanej substancji podczas ciąży. Również od okresu ciąży, w którym zastosowano suplementację, oraz płci potomstwa zależał wpływ HBM na strukturę powierzchni szkliwa zębów noworodków. U młodych gryzoni z grup HBM stwierdzono wygładzenie powierzchni szkliwa zębów, co może skutkować redukcją wystąpienia pęknięć szkliwa oraz ograniczać możliwości adhezji bakterii. Badania na świniach wykazały, że HBM zwiększył koncentrację hormonów oraz enzymów odpowiedzialnych za rozwój i homeostazę tkanki kostnej u noworodków. Skutkowało to poprawą wskaźników osteometrycznych kości i większą wytrzymałością mechaniczną. Polepszeniu uległa też mikroarchitektura chrząstek stawowych oraz grubości stref w cząstce. Zagęszczeniu uległo też usieciowienie struktury kolagenu w obszarze chrząstek. Deksametazon, jak wykazały badania przeprowadzone na modelu myszy kolczystej, wykazuje działanie przeciwapoptyczne na komórki jajników oraz indukuje autofagię w komórkach lutealnych ciałka żółtego u samicy (matki) poddanej jego działaniu podczas ciąży.

1) Tomaszewska E., Dobrowolski P., Kostro K., Jakubczak A., Taszkun I., Jaworka-Adamu J., Żmuda, A., Rycerz K., **Muszyński S.** 2015. The effect of HMB and 2-Ox administered during pregnancy on bone properties in primiparous and multiparous minks (Neivison vison), Bulletin of the Veterinary Institute in Pulawy, 59, 563-568.
2) Świetlicka I., **Muszyński S.**, Tomaszewska E., Dobrowolski P., Kwaśniewska A., Świetlicki M., Skic A., Gołacki K. 2016. Prenatally administered HMB modifies the enamel surface roughness in spiny mice offspring: An Atomic Force Microscopy study, Archives of Oral Biology, 70, 24-31.

3) **Muszyński S.**, Tomczyk A., Tomaszewska E., Dobrowolski P., Hułas-Stasiak M. 2016. Preliminary study of time-dependent influence of maternal nutrition with addition of β-hydroxy-β-methylbutyrate on the body weight and selected organs weight in the new-born spiny mice (*Acomys cahirinus*) offspring, Electronic Journal of Polish Agricultural Universities, 19 (4), #08
4) Blicharski T., Tomaszewska E., Dobrowolski P., Hułas-Stasiak M., **Muszyński S.** 2017. A metabolite of leucine (β-hydroxy-β-methylbutyrate) given to sows during pregnancy alters bone development of their newborn offspring by hormonal modulation, PLoS One, 12(6): e0179693
5) Hułas-Stasiak M., Dobrowolski P., Pawlikowska-Pawlęga B., Tomaszewska E., **Muszyński S.** 2017. The effects of dexamethasone administered during pregnancy on the postpartum spiny mouse ovary, PLoS One, 12(8): e0183528
6) Tomaszewska E., Dobrowolski P., Świetlicka I., **Muszyński S.**, Kostro K., Jakubczak A., Taszkun I., Żmuda A., Rycerz, K., Blicharski T., Jaworska-Adamu J. 2018. Effects of maternal treatment with β-hydroxy-β-metylbutyrate and 2-oxoglutaric acid on femur development in offspring of minks of the standard dark brown type, Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition, 102: e299-e308.

Podsumowując, uważam, że moje dotychczasowe zainteresowania i otrzymane rezultaty badawcze, stanowią dobrą podstawę do dalszych interdyscyplinarnych badań na pograniczu fizjologii, biofizyki i biologii, które aktywnie podejmuję.

W 2017 odbyłem trzymiesięczny staż naukowy w Państwowym Naukowo-Badawczym Instytucie Kontroli Preparatów Weterynaryjnych i Dodatków Paszowych we Lwowie.

Na kontynuację badań dotyczących wpływu nanocząstek miedzi na wytrzymałość mechaniczną i strukturę kości otrzymałem w styczniu 2018 roku dofinasowanie z NCN jako kierownik grantu. Realizowane badania mają na celu określenie charakterystyki zmian struktury i metabolizmu tkanki kostnej, czemu ma służyć działania obejmujące analizy tomograficzne i histologiczne kości i chrząstek stawowych, analizy immunohistochemiczne z wykorzystaniem przeciwciał skierowanych przeciw proteinom pełniącym funkcje regulatorowe w homeostazie tkanki kostnej (MMP13, TIMP2, BMP2, osteoprotegryna, osteokalcyna, osteonektyna), badania krystalograficzne krystalitów hydroksyapatytu oraz analizy kalorymetryczne białek kolagenowych.

Jestem podwykonawcą w grancie BIOSTRATEG „GutFeed: Innowacyjne żywienie w zrównoważonej produkcji drobiarskiej", w którym uczestniczę w badaniach nad zachowaniem integralności bariery jelitowej i zmianami osi jelitowo-kostnej u drobiu w warunkach eksperymentalnie wywołanego zapalenia jelit.

Jestem również wykonawcą w grancie BIOSTRATEG2 „EnergyFeed: Strategia zapewnienia i ewaluacji bazy tanich, efektywnych i bezpiecznych paszowych surowców energetycznych do produkcji zwierzęcej w oparciu o zasoby krajowe ze szczególnym uwzględnieniem nowoczesnych odmian żyta", w którym uczestniczę w badaniach integralności bariery jelitowej tuczników i brojlerów kurzych żywionych paszami z różną zawartością surowców zbożowych oraz dodatków enzymatycznych. W ramach projektu zajmuję się również określeniem, czy żywienie gęsi nowoczesną hybrydową odmianą żyta pokrywa zapotrzebowanie energetyczne potrzebne do prawidłowego rozwoju kośćca zapewniającego na odpowiednim poziomie funkcje podporowo-nośne u drobiu pływającego w czasie odchowu i tuczu. Ma temu służyć określenie stopnia rozwoju fizjologicznego układu kostnego gęsi, który oceniany jest na podstawie analiz zawartości czynników wzrostu, które odgrywają wysoce istotna rolę w procesie rozwoju kości: BMP2 i osteokalcyny.

Podsumowanie dorobku naukowego (razem z osiągnięciem naukowym)

- **sumaryczny Impact Factor** wg Journal Citation Reports (JCR) zgodny z rokiem ukazania się pracy – **57,196**
- **ogólna liczba punktów** wg wykazu MNiSW, zgodnie z rokiem ukazania się pracy – **999**
- **indeks Hirscha** wg Web of Science – **7**; wg bazy Scopus – **7**
- **liczba cytowań** wg Web of Science – **179** (bez autocytowań – **99**)

Zestawienie publikacji naukowych

Publikacje									
Rodzaj publikacji	Przed doktoratem			Po doktoracie (bez osiągnięcia naukowego)			Osiągnięcie naukowe		
	N	IF	P	N	IF	P	N	IF	P
Publikacje w czasopismach z listy JCR*	**2**	**0**	**12**	**37**	**44,904**	**780**	**6**	**12,292**	**175**
W tym prace z:									
obszaru nauk weterynaryjnych	-		-	19	27,997	435			
pozostałe	2		2	18	16,907	345			
Publikacje w czasopismach spoza listy JCR	**1**		**4**	**3**		**28**	-	-	-
W tym prace z:									
obszaru nauk weterynaryjnych	-		-	1		12			
pozostałe	1		4	2		16			
Łącznie	**3**	**0**	**16**	**40**	**44,904**	**808**	**6**	**12,292**	**175**
Doniesienia na konferencje i zjazdy	10			24					

* Również w sytuacji, gdy publikacja była już dostępna w bazie JCR ale Impact Factor czasopisma był dopiero naliczany (IF = 0)

N – liczba publikacji

IF – suma Impact Factor wg bazy Journal Citation Reports (JCR) zgodnie z rokiem opublikowania lub za rok 2016 dla publikacji z lat 2017-2018.

P – suma punktów wg wykazu czasopism punktowanych MNiSW zgodnie z rokiem opublikowania lub za rok 2016 dla publikacji z lat 2017-2018.

18.05.2018 Sławomir Muszyński