

Prof. dr hab. Jarosław Całka  
Katedra Fizjologii Klinicznej  
Wydział Medycyny Weterynaryjnej  
UWM w Olsztynie

Olsztyn 15.11.2018 roku

### **Ocena**

**osiągnięć naukowych, dydaktycznych i organizacyjnych dr Siemowita Muszyńskiego ubiegającego się o stopień naukowy doktora habilitowanego w dziedzinie nauk weterynaryjnych – adiunkta w Katedrze Fizyki Wydziału Inżynierii Produkcji Uniwersytetu Przyrodniczego w Lublinie**

#### **I. Przebieg pracy zawodowej**

Dr Siemowit Muszyński ukończył studia na Wydziale Fizyki, Matematyki i Informatyki Uniwersytetu Marii Curie-Skłodowskiej w Lublinie. Dyplom magistra fizyki komputerowej uzyskał broniąc 8.07.2003 roku pracę magisterską zatytułowaną „Właściwości maszyny LSM zbudowanej na neuronach Hodgkina-Huxleya”. Następnie od 1.10.2003 roku podjął pracę jako asystent w Katedrze Fizyki Wydziału Inżynierii Produkcji Akademii Rolniczej w Lublinie (obecnie Uniwersytetu Przyrodniczego w Lublinie). W tym czasie podjął studia doktoranckie w Katedrze Fizyki Uniwersytetu Marii Curie-Skłodowskiej w Lublinie, które ukończył 6.11.2008 roku broniąc pracę doktorską zatytułowaną „Modelowanie kinetyki kiełkowania wybranych nasion w zmiennych warunkach fizycznych i termodynamicznych”. Od 1.10.2015 roku do chwili obecnej jest adiunktem w Katedrze Fizyki Wydziału Inżynierii Produkcji Uniwersytetu Przyrodniczego w Lublinie. Podczas pracy zawodowej Habilitant doskonalił swój warsztat naukowy odbywając w latach 2017 trzymiesięczny staż naukowy w Państwowym Naukowo-Badawczym Instytucie Kontroli Preparatów Weterynaryjnych i Dodatków Paszowych we Lwowie.

Praca naukowa dr S. Muszyńskiego czterokrotnie została wyróżniona nagrodami władz Uniwersytetu Przyrodniczego w Lublinie:

1. Nagrodą Rektora Uniwersytetu Przyrodniczego w Lublinie za pracę doktorską (2009).
2. Nagrodą Zespołową Rektora Uniwersytetu Przyrodniczego w Lublinie za osiągnięcia naukowe (2010).
3. Nagrodą Indywidualną Rektora Uniwersytetu Przyrodniczego w Lublinie III stopnia za działalność naukową (2015).
4. Nagrodą Indywidualną Rektora Uniwersytetu Przyrodniczego w Lublinie za osiągnięcia naukowe (2016).

## **II. Ocena dorobku naukowego**

Na dorobek naukowy Habilitanta, zgodnie z załączonym wykazem, po wyłączeniu sześciu prac stanowiących rozprawę habilitacyjną, składa się łącznie 40 pozycji opublikowanych w czasopiśmie z listy JCR, w tym 20 oryginalnych publikacji naukowych z obszaru nauk weterynaryjnych i 20 z poza tego obszaru. Ponadto 4 prace z poza listy JCR i 34 doniesienia kongresowe. W 1 publikacji jest pierwszym autorem, w 1 drugim, a w pozostałych kolejnym. Pewien niedosyt budzi jedynie fakt, że w szyku autorskim przedstawionych publikacji habilitant w sześciu z nich występuje jako ostatni autor.

Na podkreślenie zasługuje fakt, że 37 z ogółem 43 artykułów habilitanta ukazało się w periodykach z bazy Journal Citation Reports co świadczy o dobrym poziomie naukowym tych publikacji. Szczegółowa analiza dorobku dr S. Muszyńskiego pokazuje, że od uzyskania stopnia doktora Habilitant znacznie poszerzył swój dorobek naukowy. Opublikował w tym czasie 37 prac oryginalnych i 24 doniesienia kongresowe. Oryginalność i jakość dorobku naukowego Habilitanta, po wyłączeniu publikacji stanowiących podstawę rozprawy habilitacyjnej, opisują następujące mierzalne parametry:

$\Sigma IF = 44,904$ ,

$\Sigma$  punktów MNiSZW = 796,

indeks Hirscha = 7,

liczba cytowań wg. Web of Science = 179 (w tym 80 autocytowań).

W opinii recenzenta liczba publikacji składających się na dorobek naukowy Habilitanta, jak również jakość tego dorobku opisana powyższymi parametrami tworzy pozytywne tło wszechstronnego przewodu habilitacyjnego.

Aktywność naukową dr S. Muszyńskiego, dotyczącą głównie oceny właściwości mechanicznych, strukturalnych i funkcjonalnych układu ruchu, można opisać w pięciu obszarach badawczych.

Badania opisane w pierwszych trzech pracach przeprowadzone na szczurach dotyczą wpływu suplementacji paszy miedzią w postaci organicznego kompleksu aminokwasowego (Cu-Gly) lub nanocząsteczek (Cu-NP) w porównaniu do suplementacji  $\text{CuSO}_4$  lub  $\text{CuCO}_3$ .

W pierwszej z wymienionych prac (*Biological Trace Element Research*, 178, 54-63) wykazano, że suplementacja paszy miedzią w formie organicznego kompleksu aminokwasowego z glicyną pokrywająca 50% dziennego zapotrzebowania w paszy wystarczyła by parametry wytrzymałościowe kości były porównywalne z występującymi u dojrzałych szczurów żywionych paszą zawierającą miedź w pełnej dawce w formie  $\text{CuSO}_4$ . Ponadto wykazano, że dawka miedzi pod postacią Cu-Gly odpowiadająca 75% dziennego zapotrzebowania okazała się najbardziej odpowiednia, gdyż poza wzrostem wytrzymałości mechanicznej kości zaobserwowano istotne zwiększenie kości beleczkowej, zwiększenie objętości kości oraz wzrost zawartości proteoglikanów w chrząstce stawowej w stosunku do zwierząt karmionych paszą z dodatkiem  $\text{CuSO}_4$ .

Kolejne doświadczenie (*Annals of Animal Sciences*, 17, 1089-1105) przeprowadzone na dorastających szczurach nie dało jednak jednoznacznych wskazań optymalnej dawki aminokwasowego kompleksu miedzi w paszy. Zaobserwowano ujemny wpływ na właściwości kości dawki 50% jak i 75%, a nawet suplementacja dawką 100% skutkowała obniżeniem wytrzymałości kości na stres mechaniczny. Zmniejszone dawki wywołały między innymi zmiany osteoporotyczne i zmniejszenie zawartości proteoglikanów w chrząstce stawowej.

Doświadczenie opisane w trzeciej publikacji (*Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 43, 103-110) wykazało, że suplementacja paszy miedzią w formie nanocząsteczek ma pozytywny wpływ na geometrię i parametry mechaniczne kości. Zwiększa ich twardość, gęstość i zawartość popiołu. Analiza struktury mineralnej części kości wykazała, że przyjmowanie w paszy nanocząsteczek miedzi zwiększyło w kościach obecność innych niż hydroksyapatyt form krystalicznych fosforanu wapnia.

Habilitant uczestniczył też w badaniach nad wpływem deoksynivalenolu, mykotoksyny grzyba *Fusarium* wykazując jej negatywny wpływ na wytrzymałość mechaniczną kości udowej norki i jej ścięnczenie (*J. Vet. Res.*, 61, 357-362). W kolejnej, pokrewnej tematycznie publikacji (*J. Vet. Res.*, 60, 349-355), wykazał, że dodatek bentonitu, skały osadowej o silnych właściwościach absorpcyjnych, zmniejszył osteopatyczne działanie

deoksynivalenolu u norek. Właściwości sorpcyjne bentonitu oraz wollastonitu w stosunku do jonów kadmu, ołowiu i miedzi badano także w pracy opublikowanej w *Przemysł chemiczny*, 96 (11), 2256-2258. Stwierdzono, że dodatek wollastonitu do granulatu skrobi termoplastycznej poprawił jej zdolność do sorpcji miedzi, a dodatek bentonitu skutkował kilkukrotnym wzrostem sorpcji wszystkich badanych jonów.

Habilitant badał też wpływ dodatku probiotyków w diecie na gęstość mineralną kości oraz ich geometryczne i mechaniczne właściwości u indyków (*Animal Production Science*, DOI: 10.1071/AN16289). W oparciu o badania densytometryczne wykazano, że wyższe dawki probiotyku wywierały korzystniejszy wpływ na rozwój kośćca indyków. Obserwowano między innymi wpływ probiotyku na gęstość mineralną kości, gęstość tkanki kostnej, zawartość popiołu, wapnia i fosforu.

Celem kolejnej publikacji (*British Poultry Science*, 58, 312-318) było ustalenie wpływu zabiegu kapłonowania na gęstość, właściwości mechaniczne i zawartość popiołu w kościach długich kapłonów. Wykazano między innymi, że wpływ kaponizacji zależał od rasy kogutków, a zabieg miał negatywny wpływ na rozwój kości długich wpływając na ich mineralizację, niezależnie od rasy kogutków.

W pracy opublikowanej w *Annals of Animal Sciences*, (DOI: 10.2478/aoas-2018-0001) habilitant badał wpływ terapeutycznych dawek chloramfenikolu na parametry morfometryczne jelita cienkiego i wątroby u świń w wieku ubojowym. Uzyskane obserwacje wykazały wpływ hepatotoksyczny, neurotoksyczny oraz zmiany w strukturze jelita cienkiego takie jak pogrubienie warstwy mięśniowej i podśluzowej, wydłużenie kosmków jelitowych oraz spłylenie krypt w dwunastnicy i jelicie czczym.

Innym obszarem zainteresowań habilitanta było sprawdzenie możliwości zastosowania kwasu 2-oksoglutarynowego (prekursora glutaminy i hydroksyproliny, aminokwasów obficie występujących w kolagenie) jako antidotum zapobiegające rozwojowi osteopenii wywołanej fundektomią żołądka u świń (*The Journal of Veterinary Medical Science*, 78, 563-571).

Suplementacja kwasu 2-oksoglutarynowego u fundektomizowanych zwierząt odwracała ujemny wpływ zabiegu na układ kostny zapobiegając utracie grubości chrząstki wzrostowej i kości beleczkowej u zwierząt traktowanych kwasem 2-oksoglutarynowym w stosunku do zwierząt poddanych zabiegowi.

W drugiej pracy z tego obszaru tematycznego (*Experimental Biology and Medicine*, 242, 671-682) habilitant badał osteoprotekcyjne właściwości kwasu

2-oksoglutarowego zmniejszające skutki uboczne podawania deksametazonu świniom. Stosowanie maksymalnych terapeutycznych dawek deksametazonu u badanych zwierząt skutkowało redukcją masy, wytrzymałości mechanicznej i długości kości w stosunku do zwierząt kontrolnych. Podczas skojarzonego podawania deksametazonu i kwasu 2-oksoglutarowego obserwowano, że badane kości były cięższe, miały większą gęstość i większą wytrzymałość mechaniczną oraz zachowały mikroarchitekturę kości beleczkowej. Obserwowano także wyższy poziom hormonu wzrostu i osteokalcyny.

Kolejny obszar dorobku naukowego habilitanta obejmuje publikacje opisujące negatywny wpływ metali ciężkich ołowiu i kadmu na tkankę kostną oraz możliwość stosowania ekstraktów herbat lub kwasu taninowego jako antidotów odwracających ten wpływ.

W pierwszej publikacji (*Environmental Toxicology and Pharmacology*, 46, 36-44) analizowano potencjalny protekcyjny wpływ suplementacji herbaty zielonej, czarnej, czerwonej i białej na właściwości mechaniczne, histomorfometryczne kości beleczkowej, chrząstkę stawową i płytkę wzrostową u dorastających szczurów poddanych 12 tygodniowej ekspozycji na kadm i ołów w diecie. Wykazano, że podawane metale ciężkie obniżyły parametry geometryczne, gęstość kości, całkowitą grubość chrząstki stawowej niezależnie od typu suplementowanej herbaty. Jednocześnie wykazały negatywny wpływ na wytrzymałość mechaniczną, grubość chrząstki wzrostowej i histomorfometrię kości beleczkowej w zależności od rodzaju herbaty. Równocześnie wykazano, że podawanie każdej z herbat zmniejszało utratę tkanki kostnej zbitej, a podawanie białej herbaty skutkowało wydłużeniem płytki wzrostowej. Jednak efekt ten nie wydaje się być zależny od zawartości kwasu taninowego, gdyż nie obserwowano go przy suplementacji herbaty zielonej, która zawiera porównywalną ilość tego kwasu do herbaty białej.

Dopełnieniem powyższej pracy jest następna opublikowana w *Experimental and Toxicological Pathology* (69, 131-141), w której badano potencjalny wpływ protekcyjny kwasu taninowego przy pokarmowym zatruciu dorosłych szczurów wzrastającymi dawkami kadmu i ołowiu. Kadm i ołów spowodowały zmniejszenie wytrzymałości mechanicznej kości udowej oraz pogorszenie parametrów histomorfometrycznych kości beleczkowej. Wysoko taninowa dieta u zwierząt intoksykowanych kadmem i ołowiem korzystnie wpłynęła na grubość chrząstki stawowej i płytki wzrostowej.

Bliźniaczy eksperyment (*Toxicology and Industrial Health*, 33, 855-866) przeprowadzony na dorastających (6 tyg.) szczurach i trwający nie 12 jak

poprzednio, a 6 tygodni wykazał jak poprzedni ujemny wpływ zatrucia na wytrzymałość, parametry histomorfometryczne kości beleczkowej, oraz grubość płytki wzrostowej i chrząstki stawowej. Suplementacja kwasu taninowego ograniczała ujemny wpływ metali na chrząstkę stawową.

Habilitation badał także wpływ suplementacji w diecie ciężarnych matek kwasu  $\beta$ -hydroksy- $\beta$ -metylomasłowego (HMB) i 2-oksoglutarynowego oraz deksametazonu na potomstwo i na matki.

W pracy (*Bulletin of Veterinary Institute in Pulawy*, 59, 563-568) badano wpływ suplementacji w diecie ciężarnych nerek kwasu  $\beta$ -hydroksy- $\beta$ -metylomasłowego i 2-oksoglutarynowego na układ kostny. Eksperyment wykazał, że zastosowana suplementacja znacząco zwiększała gęstość mineralną kości oraz mechaniczne i geometryczne parametry kości nerek. Obserwowane zmiany były lepiej wyrażone w kościach kończyny ramiennej (k. ramienna) niż miednicznej (k. udowa) i wieloródek niż pierwiastek.

Kolejne badania (*Archives of Oral Biology*, 70, 24-31) dotyczyły wpływu podawanego w diecie, w końcowej fazie ciąży, kwasu  $\beta$ -hydroksy- $\beta$ -metylomasłowego na gładkość szkliwa noworodków myszy kolczystej.

Wykazano, że dieta matek wzbogacona o kwas  $\beta$ -hydroksy- $\beta$ -metylomasłowy znacząco poprawia gładkość szkliwa noworodków. Większa gładkość szkliwa zmniejsza przyleganie bakterii i zwiększa odporność zębów na próchnicę u noworodków.

Także na myszach kolczystych (*Electronic Journal of Polish Agricultural Universities*, 19(4), #08) habilitation testował wpływ kwasu  $\beta$ -hydroksy- $\beta$ -metylomasłowego na wielkość narządów wewnętrznych u noworodków, których matki otrzymywały dodatek tego kwasu w karmie w środkowym okresie ciąży i w końcowym okresie ciąży. Badania wykazały zwiększoną masę wątroby, serca i śledziony od matek z suplementacją HMB w środkowym okresie ciąży, podczas gdy masa tych narządów od matek otrzymujących HMB w końcowym okresie ciąży nie różniła się od ich masy u zwierząt kontrolnych.

W innym eksperymencie (*PLoS One*, 12(6): e0179693) ciężarnym lochom w środkowym okresie ciąży tj. między 70 a 90 dniem ciąży podawano kwas  $\beta$ -hydroksy- $\beta$ -metylomasłowy analizując jego wpływ na kości, płytkę wzrostową i chrząstkę stawową u noworodków. Wykazano, że suplementacja HMB ciężarnym lochom skutkowała u męskich noworodków wzrostem masy ciała w tym wątroby, płuc, żołądka i długości kości. U obu płci obserwowano wzrost gęstości mineralnej kości, ale statystyczną istotność wykazano tylko u samców. Stwierdzono także wzrost mechanicznej wytrzymałości kości oraz lepsze

parametry histomorfometryczne chrząstki stawowej i płytki wzrostowej. Zastosowana dieta wpłynęła także na dystrybucję cienkich i grubych włókien kolagenowych i proteoglikanów w chrząstce stawowej. W kolejnej (*Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 102,e299-e308) pracy wykonanej na norkach habilitant wykazał, że kwas  $\beta$ -hydrokso- $\beta$ -metylomasłowy oraz 2-oksoglutarynowy w diecie wpływa na kształtowanie się układu kostnego noworodków w zależności od tego czy matka jest pierworódką czy wieloródką. Analiza porównawcza wykazała statystyczny wzrost masy kości ramiennej u noworodków wieloródek i jej zmniejszenie u pierworódek. Cięższe kości udowe noworodków męskich w stosunku do żeńskich były niezależne od liczby wcześniejszych porodów matek. Z kolei niezależnie od płci noworodków maksymalną wytrzymałość sprężystą kości ramiennej zaobserwowano u potomstwa wieloródek. Suplementacja wywołała redukcję wytrzymałości kości udowej u męskiego potomstwa pierworódek. Tylko żeńskie noworodki wieloródek niezależnie od diety wykazały wzrost pola przekroju kości ramiennej podczas gdy u pozostałych obserwowano jego spadek. Natomiast wzrost pola przekroju kości udowej obserwowano u potomstwa wieloródek, a zmniejszenie u potomstwa pierworódek. W ostatniej z omawianych publikacji (*PLoS One*, 12(8), e0183528) habilitant badał wpływ deksametazonu podawanego ciężarnym myszom kolczystym na folikulogenezę i rozwój ciała żółtego u matek po porodzie. Wykazano zmniejszoną ekspresję proapoptotycznych białek kaspazy-3 i Bax w badanych jajnikach. Z drugiej strony stwierdzono wzmożoną ekspresję związanych z autofagią białek Lamp1 i Bcl2l1, jak również proapoptotycznego białka BCL-2. Ekspresję proautofagialnych białek Lamp1 i Bcl2l1 zlokalizowano w ciałkach żółtych. W jajnikach stwierdzono zwiększoną liczbę pęcherzyków jajnikowych i ciałek żółtych. W oparciu o pozyskane informacje stwierdzono, że deksametazon u poporodowych myszy kolczystych może hamować apoptozę i promować autofagię komórek lutealnych oraz stymulować dojrzewanie pęcherzyków jajnikowych.

Uzupełnieniem realizowanej przez Habilitanta naukowej aktywności publikacyjnej w obszarze nauk weterynaryjnych jest 5 wygłoszonych referatów naukowych na konferencjach tematycznych oraz 25 doniesień kongresowych. Jego dorobek naukowy uzupełnia jeszcze 14 wykonanych recenzji manuskryptów dla periodyków naukowych. Zainteresowany odbył również 2 szkolenia o tematyce żywnościowej.

**III. Ocena prac zaliczanych do szczególnych osiągnięć naukowych przedstawionych przez *Habilitanta jako jednotematyczny cykl publikacji pt. „Żywienie i hormonalne uwarunkowania rozwoju elementów układu ruchu u drobiu ze szczególnym uwzględnieniem homeostazy tkanki kostnej”*, zgodnie z wymaganiami ustawy z dnia 14 marca 2003 roku o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. nr 65, poz. 595 ze zm.).**

Do oceny w ramach przewodu habilitacyjnego autor przedstawił cykl sześciu prac naukowych opublikowanych w latach 2017 – 2018.

- 1. Tomaszewska E., Muszyński S., Dobrowolski P., Kwiecień M., Winiarska-Mieczan A., Świetlicka I., Wawrzyniak A.** 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* 2017, 19, 159-170.
- 2. Muszyński S., Tomaszewska E., Kwiecień M., Dobrowolski P., Tomczyk A.** Subsequent somatic axis and bone tissue metabolism responses to a low-zinc diet with or without phytase inclusion in broiler chickens. *PLoS One* 2018, DOI: 10.1371/Journal.pone.0191964.
- 3. Muszyński S., Tomaszewska E., Kwiecień M., Dobrowolski P., Tomczyk A.** Effect of dietary phytase supplementation on bone and hyaline cartilage development of broilers fed with organically complexed copper in Cu-deficient diet. *Biological Trace Elements Research* 2018, 182, 339-353.
- 4. Tomaszewska E., Dobrowolski P., Klebaniuk R., Kwiecień M., Tomczyk-Warunek A., Szymańczyk S., Kowalik S., Milczarek A., Blicharski T., Muszyński S.** Gut-bone axis response to dietary replacement of soybean meal with raw low-tannin faba bean seeds in broiler chicken. *PLoS One* 2018, 13(4): e0194969.
- 5. Muszyński S., Kwiecień M., Świetlicki M., Dobrowolski P., Tatarczyk J., Gładyszewska B.** 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* 2018, 97, 695-700.

**6. Muszyński S.**, Kwiecień M., Tomaszewska E., Świetlicka I., Dobrowolski P., Kasperek K., Jeżewska-Witkowska G. Effect of caponization on performance and quality characteristics of long bones in Polbar chickens. *Poultry Science* 2017, 96, 491-500.

Wszystkie sześć prac stanowiące osiągnięcie naukowe opublikowano w renomowanych anglojęzycznych periodykach znajdujących się w bazie JCR. W tym pierwszy manuskrypt w *Brazilian Journal of Poultry Science* (IF = 0,465; MNSW lista A = 20), drugi artykuł w *PLoS One* (IF = 2,806; MNSW lista A = 35), trzeci w *Biological Trace Elements Research* (IF = 2,399; MNSW lista A = 15). Kolejny, czwarty, w *PLoS One* (IF = 2,806; MNSW lista A = 35), piąty w *Poultry Science* (IF = 1,908; MNSW lista A = 35). Szesty w *Poultry Science* (IF = 1,908; MNSW lista A = 35). Sumaryczny współczynnik oddziaływania (IF) tych prac zgodnie z punktacją z 2016 roku wynosi 12,292, a suma punktów MNSW 175.

W pracach 2., 3., 5. i 6. dr Siemowit Muszyński jest pierwszym autorem, a Jego wkład w ich powstanie Habilitant określił na odpowiednio 85%, 85%, 86%, i 74%, co potwierdzają załączone oświadczenia pozostałych współautorów. W pracy pierwszej Habilitant jest drugim autorem z udziałem 42%, natomiast w pracy czwartej ostatnim wśród 10 autorów z udziałem 31%. Habilitant deklaruje, że Jego wkład w powstaniu tego opracowania polegał na zaplanowaniu koncepcji pracy, opracowaniu metodyki, współudziale w wykonaniu testów mechanicznych, opracowaniu wyników, wykonaniu analizy statystycznej, interpretacji wyników oraz przygotowaniu manuskryptu. Ponieważ, pozycja na liście autorów dzieła naukowego, zgodnie z międzynarodowymi standardami, powinna odzwierciedlać ich wkład w wykonanie dzieła, w opinii recenzenta opisana sytuacja sugeruje niewłaściwy szlak autorski.

Cykl sześciu publikacji naukowych stanowiący zgodnie z art. 17 ust. 2 ustawy osiągnięcie naukowe jest tematycznie spójny.

Cel badań przeprowadzonych w ramach osiągnięcia naukowego definiują 3 obszary:

1. Określenie wpływu poziomu i formy wybranych mikroelementów (Zn, Cu) w mieszance paszowej na parametry wytrzymałościowe i

histomorfometryczne kości kurcząt brojlerów. Badania powyższe opisano w publikacji 1., 2., i 3..

2. Określenie wpływu źródła białka w diecie kurcząt brojlerów na homeostazę tkanki kostnej oraz właściwości fizyczne ścięgien. Opisano w publikacji 4. i 5..
3. Określenie wpływu hipogonadyzmu na cechy osteometryczne i wytrzymałościowe kości kapłonów. Publikacja 6..

W przedmiotowych doświadczeniach badano wpływ wybranych czynników żywieniowych na:

- a) właściwości osteometryczne kości - na podstawie pomiarów masy, długości oraz średnic poziomych i pionowych przekroju poprzecznego środkowej części trzonu kości. W oparciu o te parametry określono pole przekroju poprzecznego, średnią względną długość kości, wskaźnik korowo-trzonowy, objętość trzonu, średnią względną grubość ścian i wskaźnik korowo-trzonowy w płaszczyźnie. Ponadto wyliczono wtórny moment bezwładności oraz promień bezwładności.
- b) wytrzymałość mechaniczną kości – na maszynie wytrzymałościowej przeprowadzano test zginania części trzonowej kości. Na podstawie zarejestrowanych krzywych określono siłę sprężystą oraz siłę krańcową – powodującą pękanie kości.  
Na podstawie powyższych parametrów wyznaczono następujące parametry kości piszczelowo-stępowej oraz udowej: moduł sprężystości Younga, moment gnący, odkształcenie sprężyste, odkształcenie graniczne, granicę sprężystości i wytrzymałość na zginanie.
- c) gęstość mineralną istoty korowej i gąbczastej kości.
- d) gęstość tkankową kości.
- e) zawartość popiołu wyrażoną jako procent suchej masy kości.

Dokonano histologicznej oceny tkanki kostnej i chrzęstnej.

Podczas oceny tkanki kostnej dokonano oceny struktury beleczek kostnych oraz określono rzeczywistą objętość kości beleczkowej, grubość beleczki kostnej, wielkość przestrzeni między beleczkowej, liczbę beleczek oraz stosunek dojrzałych do niedojrzałych włókien kolagenowych.

Podczas oceny chrząstki wzrostowej oraz stawowej określono całkowitą grubość chrząstki. Zidentyfikowano poszczególne strefy chrząstki wzrostowej. W chrząstce stawowej określono całkowitą jej grubość oraz tworzące ją strefy. Określono w niej zawartość proteoglikanów oraz stosunek dojrzałych do niedojrzałych włókien kolagenowych.

Określono zawartość mikroelementów (Ca, P, Cu) w kościach.

Stosując test jednoosiowego rozciągania ścięgien określono cechy wytrzymałościowe ścięgien takie jak: siłę zrywającą, sztywność, wytrzymałość na rozciąganie, odkształcenie graniczne, moduł sprężystości Younga oraz pracę zerwania.

Badano właściwości termiczne ścięgien wyznaczając termiczne parametry denaturacji kolagenu takie jak temperaturę początku denaturacji  $T_{on}$ , temperaturę wierzchołka piku przemiany  $T_{max}$ , temperaturę końca przemiany  $T_{end}$ , oraz całkowitą entalpię przemiany  $\Delta H$ .

Określono stężenie w surowicy krwi hormonu wzrostu, leptyny, insulinopodobnego czynnika wzrostu (IGF-I) i osteokalcyny.

Określono zawartość Ca, P, Cu, Zn, Fe, Mg w surowicy krwi.

W ocenie recenzenta mnogość dobrze dobranych i zastosowanych metodyk badawczych oraz określonych parametrów stanowiła podstawę rzetelnej oceny wpływu badanych czynników żywieniowych oraz hipogonadyzmu na cechy osteometryczne i wytrzymałościowe badanych kości i ścięgien.

Pierwsze trzy publikacje przedstawione jako osiągnięcie naukowe przedstawiają badania mające na celu określenie wpływu zawartości w diecie i formy podania cynku i miedzi na parametry wytrzymałościowe i histomorfometryczne kości kurcząt brojlerów.

I. W pierwszej pracy przedstawionej w cyklu analizowano wpływ cynku organicznego w kompleksie z glicyną (ZnGly) oraz cynku nieorganicznego (ZnO) jako dodatku paszowego dla brojlerów Ross 308 na parametry mechaniczne, geometryczne i histomorfometryczne kości długich.

Analiza osteometryczna wykazała, że wpływ zarówno formy cynku, jak i jego poziomu w diecie, na geometrię kości jest odmienny dla kości udowej i kości piszczelowo-stępowej. Kości udowe brojlerów otrzymujących suplement cynku charakteryzowały się większym polem przekroju poprzecznego, wartością indeksu korowo-trzonowego, objętością trzonu i względną grubością ścian. W kości piszczelowo-stępowej nie obserwowano tych zmian. Niemniej dodatek cynku do paszy wpłynął na zwiększenie stosunku masy do długości obu kości wskazując na wzrost ich gęstości. W przypadku kości udowej zarówno dodatek cynku organicznego jak i nieorganicznego skutkował wzrostem wytrzymałości mechanicznej. Badania histomorfometryczne wykazały, że cynk suplementowany w formie nieorganicznej, niezależnie od dawki, poprawił mikroarchitekturę kości beleczkowej kości udowej,

zwiększając objętość kości beleczkowej oraz grubość beleczek. W przypadku kości piszczelowo-stępowej, zastosowanie zmniejszonej do połowy w stosunku do zalecanej dawki w formie Zn-Gly skutkowało zmniejszeniem objętości kości beleczkowej. Jednocześnie zaobserwowano wzrost stężenia IGF-1 w surowicy krwi ptaków w grupach suplementowanych cynkiem w połowie dawki zalecanej (50 mg/kg paszy).

**II.** W drugiej pracy wchodzącej w skład osiągnięcia naukowego analizowano wpływ zredukowanego do 25% dawki zalecanej dodatku cynku chelatowanego z glicyną z dodatkiem fitazy lub bez dodatku fitazy, do paszy rosnących brojlerów, na hormonalną oś somatyczną i metabolizm tkanki kostnej brojlerów Ross 308. Wykazano, że suplementacja zredukowanej dawki organicznego cynku spowodowała wzrost zawartości cynku i magnezu w kościach oraz wzrost zawartości w surowicy krwi hormonu wzrostu, IGF-1 i leptyny. Wzbogacenie diety fitazą w stosunku do grupy bez dodatku fitazy zaowocowało zwiększonym przyrostem masy ciała oraz zawartości Ca, Fe i Zn w surowicy, a także osteokalcyny i procentowej zawartości popiołu w kości piszczelowej. Mikrostruktura i wytrzymałość mechaniczna kości były lepsze w grupach suplementowanych organicznym cynkiem niż w grupie karmionej standardowo z dodatkiem ZnO. Niezależnie od dodatku fitazy w grupach otrzymujących cynk organiczny obserwowano znaczący przyrost grubości chrząstki stawowej i wzrostowej, objętości kości i grubości beleczek kostnych w stosunku do negatywnej grupy kontrolnej pozbawionej dodatku cynku, niemniej mniejszy niż uzyskany w przypadku ptaków karmionych paszą standardową zawierającą ZnO.

**III.** W trzeciej pracy cyklu badano mechaniczne właściwości kości, oraz histomorfometrię kości gąbczastej i chrząstki szklistej u drobiu żywionego paszą pozbawioną miedzi, lub o niskim poziomie miedzi (25% rekomendowanego zapotrzebowania dziennego) z dodatkiem fitazy lub bez dodatku fitazy. U ptaków karmionych paszą o niskim poziomie miedzi z dodatkiem fitazy wykazano zwiększony przyrost masy ciała i wyższą wagę końcową, jak również podwyższone stężenie IGF-1 i osteokalcyny w surowicy. W surowicy grupy suplementowanej niskim poziomem miedzi i fitazą wykazano także spadek koncentracji Ca w stosunku do grupy suplementowanej Cu bez fitazy. Paszowy dodatek miedzi zwiększył zawartość Ca, P, Cu i popiołu w kościach, jednak zwiększoną długość i wagę kości obserwowano w

grupie otrzymującej łącznie Cu i fitazę. Analizą histomorfometryczną potwierdzono korzystny wpływ suplementacji miedzią na objętość kości i grubość beleczek kostnych, a suplementacja fitazy była dodatnio skorelowana z liczbą beleczek kostnych w kości piszczelowo-stępowej. Dodatek miedzi znacząco zwiększał rozwój chrząstki stawowej i grubość jej warstwy wzrostowej, chociaż grubość poszczególnych stref zależała od dodatku fitazy.

Kolejne dwa manuskrypty dotyczą określenia wpływu źródła białka w diecie kurcząt na homeostazę tkanki kostnej i właściwości fizyczne ścięgien.

IV. Celem czwartej publikacji jest analiza wpływu częściowego zastąpienia poekstrakcyjnej śruty sojowej mniejszą i większą dawką nasion niskotaninowego bobiku na odpowiedź osi jelitowo-kostnej ze szczególnym uwzględnieniem rozwoju kości u brojlerów kurzych Ross 308. Suplementacja surowych nasion bobiku niskotaninowego w paszy skutkowała zmniejszeniem parametrów geometrycznych kości. W obu grupach doświadczalnych zaobserwowano redukcję pola przekroju poprzecznego trzonów kości. Wyższa dawka bobiku w grupie II spowodowała zmniejszenie masy kości oraz wartości indeksu korowego w trzonie kości. W porównaniu z grupą kontrolną wartości parametrów wytrzymałościowych kości takie jak odkształcenie sprężyste, odkształcenie graniczne i moduł Younga były wyższe w grupie I, natomiast siła sprężysta i siła krańcowa niższe w grupie II. W grupie tej zawartość popiołu surowego, stosunek popiołu do objętości kości, gęstość objętościowa kości oraz zawartość fosforu były wyższe, natomiast stosunek Ca/P był niższy niż w grupie kontrolnej. W grupie II w porównaniu z grupą kontrolną zmniejszyła się gęstość mineralna kości oraz zawartość mineralna w całej kości, części dystalnej i środkowej. W grupie I zmniejszyła się zawartość mineralna kości w części dystalnej. W grupie I w porównaniu do grupy II stwierdzono statystycznie istotną niższą zawartość popiołu surowego, oraz wyższą gęstość mineralną w całej kości i trzonie, jak również zawartość mineralną w trzonie kości. Pomimo, że u ptaków grupy II stwierdzono lżejsze kości piszczelowo-stępowe oraz ich zmniejszone pole przekroju poprzecznego i grubości ściany trzonu kości, u ptaków nie obserwowano zaburzeń w poruszaniu się. Ponadto suplementowane w paszy dawki bobiku wywołały zmiany histologiczne w budowie ściany wewnętrznej jelita cienkiego oraz splotów jelitowego układu nerwowego. W konkluzji stwierdzono, że surowe ziarno bobiku niskotaninowego nie zapewnia efektów żywieniowych porównywalnych do śruty sojowej.

V. Wyniki badań przedstawione w piątej publikacji wchodzącej w skład osiągnięcia naukowego opisują wpływ surowych nasion ciecierzycy, zamiennika śruty sojowej, jako źródła białka w diecie kurcząt na właściwości fizyczne ścięgien. U ptaków karmionych ciecierzycą test jednoosiowego rozciągania nie wykazał różnic w wartościach siły zrywającej, sztywności, odkształcenia granicznego i modułu sprężystości Younga w stosunku do ptaków kontrolnych. Jednak uzyskana wartość pracy potrzebnej do zerwania ścięgien, a także ich wytrzymałość na rozciąganie u kurcząt karmionych ciecierzycą były statystycznie wyższe niż u tych karmionych soją. Jednocześnie zmiany odnotowane w przebiegu analizy termicznej ścięgien wskazują na odmienną organizację wiązek kolagenu w ścięgnach ptaków żywionych ciecierzycą oraz ich gęstsze upakowanie. Ścięgna tych ptaków wymagały więcej energii do zerwania niż ścięgna zwierząt grupy kontrolnej.

VI. Szusta publikacja dotyczy określenia wpływu kastracji (kapłonowania) kogutów rasy Polbar na właściwości osteometryczne i wytrzymałościowe kości udowej i piszczelowo-stępowej. Badania osteometryczne wykazały, że trzony kości kapłonów charakteryzowały się większymi średnicami i większym polem przekroju poprzecznego. Powyższe różnice przełożyły się na zmniejszenie sprężystości badanych kości (wartości siły sprężystej) i tym samym na większą skłonność do deformacji plastycznej. I chociaż kapłonowanie nie miało wpływu na sztywność, energię sprężystą i pracę do zniszczenia to obserwowane wyraźne zmniejszenie wartości modułu Younga u kapłonów świadczy o tym, że ich kości są mniej sprężyste niż kogutów kontrolnych. Analiza naprężeń dowiodła także, iż mimo, że siła krańcowa przy której dochodzi do pęknięć u kapłonów i kogutów kontrolnych były podobne to do złamania kości kapłonów dochodziło przy mniejszym naprężeniu wewnętrznym kości. Przeprowadzone analizy sugerują, że kapłonowanie zwiększa ryzyko wystąpienia trwałych deformacji badanych kości lub ich złamań. Mniejszej wytrzymałości mechanicznej kości kapłonów towarzyszyła mniejsza w nich zawartość mineralna oraz gęstość tkankowa, a także mniejsza zawartość fosforu i wapnia.

W ocenie recenzenta zarówno publikacje wchodzące a skład osiągnięcia naukowego, jak również prace tworzące dorobek naukowy habilitanta stanowią istotny wkład w aktualny stan wiedzy. Pozytywna ocena dorobku znajduje potwierdzenie w jego wysokich parametrach bibliometrycznych

#### IV. Ocena działalności dydaktycznej i organizacyjnej

Uzupełnieniem pracy naukowej dr Siemowita Muszyńskiego jest Jego praca nauczyciela akademickiego. Habilitant prowadzi zajęcia dydaktyczne na następujących kierunkach studiów: Biologia (Biofizyka), Gastronomia i sztuka kulinarna (Fizyka z Biofizyką), Gospodarka przestrzenna (Fizyka), Technika rolnicza i leśna (Fizyka), Rolnictwo (Agrofizyka), Technologia żywności i żywienie człowieka (Fizyka), Wychowanie fizyczne (Fizyka z biomechaniką). Dopełnieniem Jego działalności dydaktycznej jest udział w dwóch komitetach organizacyjnych konferencji naukowych organizowanych w Lublinie w latach 2006 i 2018. Ponadto jest On członkiem Polskiego Towarzystwa Agrofizycznego od 2009 roku.

Należy podkreślić również udział dr S. Muszyńskiego w trzech krajowych projektach badawczych odpowiednio w roli podwykonawcy, wykonawcy i kierownika projektu.

#### V. Wniosek końcowy

Ocena dorobku naukowego dr Siemowita Muszyńskiego (szczególnie prac zaliczonych do szczególnych osiągnięć naukowych przedstawionych przez Habilitanta jako jednotematyczny cykl publikacji oraz dokonań naukowych, dorobku dydaktycznego i organizacyjnego), na podstawie załączonej dokumentacji, pozwala na stwierdzenie, że dorobek ten stanowi istotny wkład w istniejący stan wiedzy i spełnia wymagania określone w art. 16 Ustawy o stopniach naukowych i tytule naukowym z dnia 14 marca 2003 roku (Dz. U. z 2003 r., nr 65, poz. 595; z 2005 r. nr.164, poz. 1365; z 2011 r., nr 84, poz. 455).

KIEROWNIK KATEDRY  
FIZJOLOGII KLINICZNEJ  
*Zatwierdza*  
prof. dr hab. Jarosław Calka

UNIWERSYTET WARMIŃSKO-MAZURSKI  
w Olsztynie  
WYDZIAŁ MEDYCYNY WETERYNARYJNEJ  
Katedra Fizjologii Klinicznej  
10-718 Olsztyn, ul. M. Oczapowskiego 13  
tel. 89 523 44 60 fax 89 523 38 77  
NIP 739-30-33-097