

**Prof. dr hab. Andrzej Rychlik**  
**Katedra Diagnostyki Klinicznej**  
**Wydziału Medycyny Weterynaryjnej**  
**UWM w Olsztynie**

**OCENA**  
**PRACY DOKTORSKIEJ**

**lek. wet. Marii Chmurskiej-Gąsowskiej**

**pt. „Stężenie hormonów tarczycy (TH) w przebiegu ciąży u królika domowego  
(*Oryctolagus cuniculus f. domesticus*)”**

wykonanej w

**Uniwersyteckim Centrum Medycyny Weterynaryjnej**

**UJ-UR w Krakowie**

**pod kierunkiem dr hab. Iwony Taszkun, prof. uczelni, UP Lublin**

**promotor pomocniczy: dr n. wet. Jarosław Wieczorek, UCMW UJ-UR  
Kraków**

Gruczoł tarczowy ma ogromne znaczenie w utrzymaniu homeostazy całego organizmu i prawidłowego metabolizmu i dlatego zaburzenia funkcjonowania tarczycy mogą prowadzić do poważnych zaburzeń zdrowia. Zagadnieniem, które ciągle wymaga badań, jest wpływ hormonów tarczycy na płodność, funkcje układu rozrodczego, przebieg ciąży, rozwój płodu oraz stan zdrowia potomstwa u ludzi i zwierząt. Regulacja podwzgórzowo-przysadkowo-tarczycowa u człowieka i królika domowego jest bardzo zbliżona. Gatunek ten od wielu lat służy, jako zwierzę modelowe, do badań w doświadczeniach nad aktywnością osi

podwzgórzowo-przysadkowo-tarczycowej, wpływu hormonów tarczycy na inne narządy i metabolizm. Badania te mają także za zadanie ocenę wpływu czynników zewnętrznych i zaburzeń metabolicznych na aktywność tego gruczołu. Należy jednak zaznaczyć, że są to wymagające badania pod względem metodologicznym, finansowym i organizacyjnym i dlatego w dostępnej literaturze można odnaleźć niewiele doniesień opisujących dynamikę zmienności tyreotropiny i hormonów tarczycy w przebiegu ciąży u tego gatunku, ale już nie jako model zwierzęcy dla człowieka. W tym kontekście podjęcie przez Doktorantkę badań w tym kierunku należy uznać za w pełni celowe i uzasadnione.

Przedłożona do oceny rozprawa doktorska liczy 166 stron maszynopisu, w tym 24 strony piśmiennictwa, zawierających 252 pozycje literatury oraz 12 linków do ustaw, rozporządzeń i dyrektyw, na które doktorantka powołuje się w swojej dysertacji. Ponadto praca zawiera schematy osi podwzgórzowo-przysadkowo-tarczycowej i ankiety badania klinicznego królic oraz 15 tabel i 16 rycin przedstawiających wyniki badań. Praca zawiera również 10 fotografii dokumentujących realizację badań wykonanych przez doktorantkę. Układ pracy jest zbliżony do klasycznego i zawiera wykaz skrótów zastosowanych w pracy, spis treści, wstęp, cele pracy, materiał i metody, zestawienie i opis wyników. Następnie Autorka przedstawia omówienie wyników (dyskusja) i wnioski, bibliografię, streszczenie w języku polskim i angielskim, fotografie, spis schematów, tabel, rycin i fotografii oraz załącznik zawierający karty badania klinicznego królic i tabele wyników badań laboratoryjnych krwi królic z zaznaczonymi wynikami analizy statystycznej pomiędzy rasami.

Wstęp pracy, obejmujący 26 stron, podzielony został na 8 podrozdziałów. W pierwszych dwóch Doktorantka (w oparciu o bogate piśmiennictwo) w sposób szczegółowy, ale jasny i czytelny przedstawiła zasady regulacji biosyntezy, wydzielania, aktywacji i transportu hormonów tarczycy, wzbogacając opis o

czytelny schemat osi podwzgórzowo-przysadkowo-tarczycowej. Na podkreślenie zasługuje fakt, że Autorka przedstawiła mechanizmy regulacyjne na różnych poziomach, podkreślając m.in. wpływ układu współczulnego. Wnikliwy opis tych mechanizmów w oparciu o bogatą literaturę świadczy o bardzo dobrym merytorycznym przygotowaniu Doktorantki do podjętego zadania badawczego. Autorka słusznie podkreśliła, podsumowując dotychczasową wiedzę na ten temat, że oś podwzgórzowo-przysadkowo-tarczycowa nie jest samoistną pętlą regulatorową, lecz elementem sieci połączeń metabolicznych organizmu. Zaakcentowała również, że wpływ na mechanizmy regulacyjne tej osi ma również stan fizjologiczny organizmu i interakcje ze środowiskiem zewnętrznym. W kolejnych podrozdziałach Autorka podkreśliła duże znaczenie hormonów tarczycy w stanach fizjologicznych i patologicznych, w tym wpływ na ciążę i płód u ludzi i zwierząt. Kolejne rozdziały monografii zostały poświęcone zagadnieniom omawiającym znaczenie królika jako zwierzęcia hodowlanego i doświadczalnego. Ostatni podrozdział został poświęcony zaburzeniom tarczycy u królików. Zdaniem Recenzenta w celu zwiększenia spójności omawianej tematyki we wstępie dysertacji ten rozdział powinien zostać przeniesiony do wcześniejszych pozycji omawiających aspekty fizjologii i patologii gruczołu tarczycowego. W dostępnej literaturze niewiele jest prac podejmujących temat chorób tarczycy u królików, a jeszcze mniej opracowań poruszających tematykę wpływu hormonów tarczycy na przebieg ciąży, plenność samic i masę urodzeniową miotu. W związku z tym Autorka za cel badań przyjęła określenie wpływu tyreotropiny i hormonów tarczycy na przebieg ciąży u tego gatunku zwierząt oraz istotne pod względem aplikacyjnym ustalenie wskaźnika laboratoryjnego związanego z liczbą potomstwa i ewentualnym ryzykiem wystąpienia toksemii ciążowej. W tym kontekście podjęty temat należy uznać za uzasadniony pod względem poznawczym i aplikacyjnym.

Badania wykonano na 12 samicach królika domowego należące do dwóch ras: popielańskiej białej i termondzkiej białej. Badania realizowano w Stacji Doświadczalnej Katedry Genetyki i Metod Doskonalenia Zwierząt Uniwersytetu Rolniczego im. Hugona Kołłątaja w Krakowie. Zwierzęta miały zapewnione odpowiednie warunki utrzymania zgodnie z Rozporządzeniem Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi z dnia 28 czerwca 2010 roku. Hodowla obu ras jest zarejestrowana w Krajowym Centrum Hodowli Zwierząt, co warunkuje odpowiedni materiał badawczy. Doktorantka uzyskała zgodę II Lokalnej Komisji Etycznej na realizację doświadczenia (uchwała 146/2018). Wszystkie zwierzęta biorące udział w doświadczeniu były objęte programem profilaktycznym, obejmującym badania parazytologiczne i odpowiednie dla tego gatunku szczepienia.

Metodyka badań nie budzi zastrzeżeń. W badaniach zastosowano odpowiedni wybór parametrów laboratoryjnych oznaczonych nowoczesnymi metodami analitycznymi wykonanych analizatorem hematologicznym Mindray BC-5300Vet i biochemicznym Erba Mannheim XL 640, które zapewniają odpowiednią jakość wykonywanych badań. Badania stężenia tyreotropiny (TSH) w surowicy wykonano metodą immunoenzymatyczną (ELISA) zaś pomiar stężenia hormonów całkowitej tyroksyny, wolnej tyroksyny, całkowitej trójiodotyroniny i wolnej trójiodotyroniny w surowicy wykonano metodą radioimmunologiczną. Zdaniem Recenzenta zbyteczny jest szczegółowy opis tych metod, jaki doktorantka zamieściła w dysertacji, gdyż do ich oznaczeń zastosowano komercyjne testy. Wystarczy podać dokładną specyfikację handlową testu oraz wskazać rodzaj aparatury badawczej, która służyła do odczytu wspomnianych parametrów, co Autorka uczyniła. W ostatnim podrozdziale Doktorantka, zgodnie z wymogami prac naukowych, przedstawiła charakterystykę zastosowanej analizy statystycznej.

W rozdziale: „Wyniki” podzielonym na 22 podrozdziały, lek. wet. Maria Chmurska-Gąsowska przedstawiła, odwołując się do odpowiednich tabel i rysunków, uzyskane wyniki badań przeprowadzonych u królic w ciąży. Obejmują one badania kliniczne, hematologiczne i biochemiczne z uwzględnieniem parametrów hormonalnych. Na podkreślenie zasługuje szczegółowy opis wyników badania klinicznego dla każdej samicy, ujęty w formie opracowanej przez Autorkę ankiety, na podstawie wytycznych The Royal School of Veterinary Studies University of Edinburgh. Takie postępowanie zapewniło odpowiedni poziom i jakość tego badania. Ponadto w tym rozdziale Autorka zamieściła, bardzo istotne dla wartości merytorycznej pracy, wyniki korelacji pomiędzy poszczególnymi hormonami u samic królików, liczbę młodych w miocie oraz zależność pomiędzy TSH i pozostałymi hormonami tarczycy a liczebnością miotu. Nie została wykonana analiza zależności bez podziału na rasy, co Doktorantka tłumaczyła zbliżoną dynamiką zmian stężeń hormonów tarczycy u wszystkich królic, bez względu na rasę. Zdaniem Recenzenta, jeżeli wszystkie pozostałe parametry poddano analizie statystycznej oceniającej różnice między rasami, to należało to też zrobić w odniesieniu do parametrów hormonalnych i, nawet pomimo braku różnic, zamieścić w monografii.

W rozdziale: „Dyskusja” lek. wet. Maria Chmurska-Gąsowska omówiła uzyskane wyniki i porównała je z danymi przedstawionymi przez innych autorów. Analiza wyników badań hematologicznych i biochemicznych w większości oznaczanych parametrów nie wykazała różnic statystycznych, pomiędzy poszczególnymi terminami badań królic. Oznaczone parametry miały za zadanie ocenić stan zdrowia królic i wychwycić ewentualne zaburzenia. Należy jednak podkreślić, że zostały opisane z dużą znajomością omawianej tematyki, w oparciu o dobrze dobraną literaturę, co świadczy o dużej wiedzy Autorki o tym gatunku zwierząt w aspekcie lekarsko-weterynaryjnym. Jednak największą wartość

naukową i praktyczną, zdaniem Recenzenta, mają wyniki badań hormonalnych. Autorka wykazała, że wolna trójdotyronina (fT3) może być przesiewowym wskaźnikiem laboratoryjnym do oceny czynności tarczycy u tego gatunku. Interesujące jest wykazanie przez Doktorantkę ujemnej korelacji między stężeniem fT3 w surowicy a liczbą uzyskanego potomstwa, co może mieć istotny wpływ na efektywność hodowli tych zwierząt. Ciąża u królic trwa krótko (28-33 dni), co powoduje, że w hodowli tego gatunku, niewiele jest czasu na wykrycie ewentualnych problemów zdrowotnych zagrażających ciąży. Stąd wykazanie przez Doktorantkę parametru laboratoryjnego umożliwiającego identyfikację zaburzeń hormonalnych mających wpływ na status zdrowotny królic w ciąży jest istotne nie tylko pod względem poznawczym, ale i aplikacyjnym.

Z obowiązku Recenzenta pragnę zwrócić uwagę na pewne niedoskonałości redakcyjne stwierdzone w recenzowanej pracy:

Proponuję, aby Autorka bardziej precyzyjnie sformułowała cele pracy. W rozdziale: Cele badań czytamy, że celem będzie określenie wpływu tyreotropiny i hormonów tarczycy na przebieg ciąży tego gatunku. Zdaniem Recenzenta bardziej precyzyjne byłoby sformułowanie o określeniu profilu stężeń badanych hormonów w przebiegu ciąży.

Autorka w rozdziale: cel badań oraz we wniosku nr 2 postanowiła wyznaczyć przesiewowy wskaźnik laboratoryjny związany ze stopniem wystąpienia toksemii i padnięciami ciężarnych samic. Natomiast we wnioskach podała, że oznaczenie stężenia fT3 w surowicy w 15 dniu ciąży może być przesiewowym wskaźnikiem laboratoryjnym do oceny stopnia ryzyka wystąpienia toksemii ciążyowej u królic. Zdaniem Recenzenta ten wniosek jest za daleko posunięty, gdyż Doktorantka nie badała korelacji, czy, jak podała, stopnia ryzyka tego parametru u królic dotkniętych toksemią. Wykazała tylko ujemną zależność między stężeniem FT3 i tT3 a liczbą uzyskanego potomstwa, co w

połączeniu z ujemnym bilansem energetycznym, może mieć wpływ na częstotliwość występowania tej choroby.

Wniosek trzeci również proponuję przeredagować następująco: Profil zdrowotny królic w ciąży powinien zostać rozszerzony o oznaczenie stężenia fT3. Przydatność oznaczanych w pracy badań hematologicznych i biochemicznych w profilach zdrowotnych jest powszechnie znana i podkreślanie ich znaczenia we wniosku uważam za niepotrzebne. W pracy służyły do ceny stanu zdrowotnego królic. Należy jednak zaznaczyć, że uzyskane przez lek. wet. Marię Chmurską-Gąsowską wyniki z przeprowadzonych badań są istotne pod względem poznawczym i aplikacyjnym a wnioski wyciągnięte na ich podstawie wymagają jedynie doprecyzowania i przeredagowania.

Zwraca uwagę brak precyzyjnego wskazania grupy kontrolnej, czyli królic nie będących w ciąży, w celu określenia wartości referencyjnych omawianych parametrów hematologicznych i biochemicznych. Taką grupą może mogły być królice przed kryciem, ale tylko odnośnie pierwszego tego terminu. Autorka sama pisze na stronie 33 wers 20, że brak jest jednolitych wartości referencyjnych hormonów tarczycy dla tego gatunku. Doktorantka podaje w tabeli 9. wartości określone przez innych badaczy i porównuje do nich swoje wyniki. Odnosi je także do danych z publikacji A. Winnickiej „Wartości referencyjne podstawowych badań laboratoryjnych w weterynarii”. Wyd. VI zmienione. Wydawnictwo SGGW Warszawa 2015. Zdaniem Recenzenta większą wartość porównawczą miałyby dane referencyjne uzyskane od tego samego gatunku królika, który przebywał w tych samych warunkach zoohigienicznych. Badane parametry powinny być oznaczane tymi samymi metodami.

W pracy zauważyłem kilka błędów w pisowni i składni. Autorka używa sformułowania „normy referencyjne”. Właściwsze byłoby określenie wartości

referencyjne, gdyż jest różnica w pojęciach norma i wartości referencyjne. Nieliczne błędy literowe zaznaczyłem w tekście.

Podsumowując ocenę całokształtu dysertacji, pragnę jeszcze raz podkreślić trafność i przydatność tematu. Autorka wykazała się szeroką wiedzą merytoryczną w zakresie podjętego w swojej dysertacji tematu, co udowodniła we wstępie i dyskusji. Przeprowadzone badania mają dużą wartość aplikacyjną i poznawczą, zostały wykonane przy użyciu nowoczesnych technik analitycznych i statystycznych. Należy również podkreślić, że są to pionierskie badania nad statusem hormonalnym królic w ciąży. Proponowany przez Doktorantkę parametr może być przydatnym wskaźnikiem do oceny czynności tarczycy u tego gatunku podczas ciąży. Zawarte w recenzji uwagi mają charakter dyskusyjny i redakcyjny, więc nie obniżają wartości merytorycznej pracy. Dysertacja na stopień doktora nauk weterynaryjnych lek wet. Marii Chmurskiej-Gąsowskiej spełnia wymogi stawiane w Ustawie z dnia 14.03.2003 r. o stopniach i tytule naukowym oraz stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz.U. z 2003 r. Nr 65 poz. 595 z późn. zm.). Przedkładam więc Radzie Dyscypliny Wydziału Medycyny Weterynaryjnej Uniwersytetu Przyrodniczego w Lublinie wniosek o dopuszczenie lek. wet. Marii Chmurskiej-Gąsowskiej do dalszego etapu przewodu doktorskiego.

Olsztyn, 24.02.2022

Prof. dr hab. Andrzej Rychlik