

Dr hab. Grażyna Wójcicka
Katedra i Zakład Patofizjologii
Uniwersytetu Medycznego w Lublinie
Ul. Jaczewskiego 8b, 20-090 Lublin
Tel. 81 448 65 00
e-mail. grazyna.wojcicka@umlub.pl

24.08.2022

OCENA

rozprawy doktorskiej lek. wet. Kamila Gruszczyńskiego pt. „Ocena i modyfikacje endogennych czynników przeciwbiegunkowych w jelitach indyków”

Uzasadnienie podjęcia tematu badawczego

Ciężkie zaburzenia wodno-elektrolitowe towarzyszące biegunkom są główną przyczyną zwiększonej śmiertelności drobiu w stadach produkcyjnych. Szczególnie podatne na biegunki są młode rozwijające się indyki, a wyniszczające hodowle indyckie choroby biegunkowe przyczyniają się ogromnych strat ekonomicznych i konieczności masowego stosowania antybiotykoterapii. Mając na względzie produkcję zdrowej żywności oraz częste występowanie biegunek opornych na leczenie antybiotykami, poszukuje się alternatywnych do antybiotykoterapii metod hamowania stanów biegunkowych w hodowlach indyckich. Skutecznym rozwiązaniem tego problemu może być wprowadzenie do żywienia ptaków paszy zawierającej składniki działające ochronnie na funkcję przewodu pokarmowego poprzez stymulację wydzielania endogennych czynników regulujących jelitową homeostazę wodno-elektrolitową. Temu zagadnieniu została poświęcona praca doktorska Pana Kamila Gruszczyńskiego wykonana w Zakładzie Patofizjologii i Katedrze Przedklinicznych Nauk Weterynaryjnych Wydziału Medycyny Weterynaryjnej Uniwersytetu Przyrodniczego w Lublinie pod kierunkiem Pani Profesor Marty Wójcik. Tematyka pracy doktorskiej jest ważna nie tylko pod względem ekonomicznym i klinicznym, ale także poznawczym. Ma również charakter pionierski, dotyczy bowiem dotychczas niepoznanego efektu zastosowania słodowanych ziaren pszenicy u młodych biegunkowych indyków oraz identyfikacji mechanizmów protekcyjnego działania modyfikowanej pszenicy na strukturę i funkcję bariery jelitowej.

Struktura pracy

Przedstawiona do oceny rozprawa doktorska została napisana w języku polskim w postaci wydruku komputerowego na 79 stronach formatu A4, w układzie zawierającym spis treści, wykaz skrótów, streszczenie w języku polskim i angielskim, wstęp, cel pracy, materiał i metody, wyniki, omówienie wyników oraz piśmiennictwo. Wszystkie wymagane rozdziały napisane zostały w odpowiedniej proporcji. Praca zawiera 4 schematy, 6 tabel, 9 rycin (w tym 2 fotografie) oraz 74 pozycje piśmiennictwa, wyłącznie anglojęzycznego, które obejmuje zarówno prace oryginalne jak i przeglądowe, z czego 31% pochodzi z ostatnich 10 lat, co świadczy o aktualności podjętego przez Doktoranta tematu. Załączona literatura została dobrze dobrana i właściwie zacytowana. Cała praca napisana jest bardzo dobrym językiem naukowym, wskazując na rzetelne zaznajomienie się Doktoranta z fachową terminologią i podjętą problematyką.

Uwagi redakcyjne i edytorskie

1. W „Spisie treści” umieszczenie pełnych tytułów podrozdziałów w części „Wstęp” oraz rozwinięcie rozdziału „Materiały i metody” o odpowiednie tytuły podrozdziałów ułatwiłoby ogólny wgląd w zawartość dysertacji.
2. W treści pracy, zamieszczenie zgodnej ze spisem treści numeracji przy tytułach rozdziałów i podrozdziałów oraz zachowanie odpowiednich odstępów uczyniłoby pracę bardziej przejrzystą.
3. W części „Lista skrótów i symboli” wyjaśnienie skrótów anglojęzycznych zarówno w języku polskim jak i angielskim ujednoliciłoby wykaz.
4. Rozdział 3. („Wyniki”) należałoby rozpocząć od nowej strony.
5. W tekście pojawiło się kilka drobnych błędów literowych i interpunkcyjnych:
 - a) owymi/składowymi str. 11.
 - b) stłuszczenia/-em str. 13
 - c) nie specyficzny/ niespecyficzny str. 24
 - d) nie podatną/ niepodatną str. 27
 - e) APT/ATP str. 42
 - f) JAP/IAP str. 28 I 41
 - g) Polisaharyd/polisacharyd str.
 - h) K/Z str 58
 - i) KMP/ ZMP str. 56 i 58
 - j) ZMP/Z str 59.

- k) Kropki, spacje: str. 24, 25, 27, 69; Spis treści punkt 4.6
6. Niektóre pozycje piśmiennictwa opublikowana w latach 80. mogłaby zostać zastąpiona nowszymi doniesieniami.

Ocena szczegółowa pracy

We **wstępie** liczącym 30 stron, Doktorant w zwięzły i przystępny sposób przedstawia najważniejsze informacje dotyczące przeciwzapalnego i przeciwsekrecyjnego działania wybranych endogennych modulatorów sekrecji jelitowej, w tym czynnika antysekrecyjnego (ASF) i jelitowej fosfatazy alkalicznej (IAP), podkreślając ich wzajemne interakcje z pro-biegunkowymi czynnikami pochodzenia bakteryjnego takimi jak lipopolisacharyd (LPS), zewnątrzkomórkowy trójfosforan adenozy (eATP) czy neuraminidaza (NA). Interakcje te zostały również przedstawione na 3 załączonych graficznych schematach. W dalszej części Autor opisuje etiologię i patomechanizm biegunek u indyków. Szczególną uwagę poświęca charakterystyce słodowanej pszenicy.

Przedstawione w tej części pracy dane literaturowe posłużyły Doktorantowi do klarownego przedstawienia problemu naukowego, sformułowania hipotez badawczych oraz ustalenia metod adekwatnych do osiągnięcia zamierzonego celu.

Uwagi:

1. Ponieważ analiza składu surowej i modyfikowanej pszenicy stanowiła część przeprowadzonych przez Doktoranta badań, Tabele 1 i 2 oraz Rycinę 1 przedstawiające skład tych ziaren proponowałabym umieścić w części „Wyniki” (w kolejności zgodnej z opisem metod).

Cel pracy został jasno sformułowany i obejmuje ocenę przeciwbiegunkowego działania młóta pszennego u młodych indyków w oparciu o analizę zmian morfologicznych i morfometrycznych przewodu pokarmowego oraz ekspresję endogennych czynników przeciwbiegunkowych takich jak czynnik antysekrecyjny (ASF) oraz jelitowa fosfataza zasadowa (IAP). W pracy oceniano także aktywność jelitowej fosfatazy alkalicznej w ścianie i treści dwunastnicy oraz osoczu krwi obwodowej. Autor podejmuje się również wykazania zależności pomiędzy ekspresją tych endogennych protekcyjnych czynników (ASF, IAP) a poziomem wybranych pro-biegunkowych czynników pochodzenia bakteryjnego, w tym lipopolisacharydu bakteryjnego (LPS), zewnątrzkomórkowego ATP (eATP) oraz neuraminidazy (NA), zarówno w ścianie jelita i treści jelitowej jak i w osoczu. U badanych



ptaków oceniano również wpływ młóta pszennego na przyrost masy ciała oraz objawy kliniczne biegunki.

Metodyka badań została starannie zaplanowana i szczegółowo przedstawiona na 11 stronach pracy oraz załączonym schemacie. Badania przeprowadzono na 120 pisklętach indyckich zarówno zdrowych jak i z objawami biegunki, przydzielonych losowo do 5 grup po 12 osobników (w dwóch powtórzeniach). Dynamikę zmian morfologicznych i czynnościowych we wszystkich grupach oceniano w 4 przedziałach czasowych tj. w 2, 4, 8 i 12 tygodniu życia w subgroupach po 3 osobniki (w dwóch powtórzeniach). Metody badawcze zastosowane przy realizacji rozprawy doktorskiej zostały odpowiednio dobrane i posłużyły do poprawnego wykonania postawionych celów badawczych. Zwraca uwagę różnorodność zastosowanych w pracy technik badawczych w tym, metod biologii molekularnej, analizy chromatograficznej, oceny histochemicznej i spektrofotometrii, a precyzyjny opis procedur wskazuje na biegłe opanowanie przez Doktoranta użytych technik laboratoryjnych.

Uwagi:

1. Gdzie przetrzymywane były indyki przez cały okres doświadczenia?
2. Jak pobierano krew w celu otrzymania osocza?
3. Czy te same metody analityczne zastosowano w analizie składu nieprzetworzonych i przetworzonych ziaren pszenicy?
4. Skąd pozyskano młóto pszenne?

Wyniki uzyskane w ramach niniejszej dysertacji są zgodne z wytyczonymi celami i posłużyły do wykazania przeciwbiegunkowego działania młóta pszennego u młodych indyków. Liczne uzyskane dane przedstawiono na 19 stronach wydruku oraz zaprezentowano na 8 rycinach i 2 tabelach. W swoich badaniach Autor między innymi wykazał, że dodanie młóta pszennego do standardowej paszy hamuje objawy biegunkowe u indyków oraz zwiększa przeżywalność ptaków nie wpływając na przyrosty masy ciała. Ponadto Doktorant wykazał, że dodatek młóta pszennego do żywienia tych zwierząt redukuje zmiany morfologiczne oraz zwiększa ekspresję FSA i IAP w ścianie jelita. Podawanie zmodyfikowanej pszenicy wpływa na aktywność katalityczną jelitowej fosfatazy alkalicznej (IAP), zwiększając aktywność tego enzymu w treści pokarmowej, natomiast hamując w ścianie jelita i osoczu. Doktorant wykazał ponadto, że aktywność IAP w treści dwunastnicy koreluje ujemnie ze stężeniem LPS w treści pokarmowej. Zaobserwował także ujemną korelację pomiędzy aktywnością IAP w śluzówce dwunastnicy a stężeniem ATP w ścianie jelita.



Uwagi:

1. Ujednolicenie sposobu graficznego przedstawienia wyników ułatwiłoby wgląd w uzyskane dane.
2. Przy opisie znamienych statystycznie różnic dla danych zaprezentowanych na rycinach, dodatkowe zamieszczenie w tekście wartości liczbowych (bezwzględnych lub procentowych) ułatwiłoby analizę uzyskanych wyników.
3. W Tabeli 6. niektóre znamienności statystyczne nie zostały zaznaczone:
 - spadek aktywności NA w śluzówce dwunastnicy u ptaków 12 tygodniowych z grupy BMP;
 - spadek aktywności NA w treści dwunastnicy u 2 tygodniowych ptaków z grupy ZMP.

Omówienie wyników

Uzyskane wyniki Doktorant dokładnie i w interesujący sposób omówił na 7 stronach pracy. Logiczna i poparta danymi z literatury interpretacja uzyskanych wyników wskazuje na dużą umiejętność Doktoranta do wyciągania prawidłowych wniosków oraz konfrontowania wyników własnych z osiągnięciami innych autorów. Ta część dysertacji zawiera wiele cennych spostrzeżeń i przemyśleń świadczących o badawczym obiektywizmie Doktoranta oraz dowodzi wartości naukowej przeprowadzonego procesu badawczego. Szczególnie ciekawym spostrzeżeniem jest brak oczekiwanego przyrostu masy ciała, pomimo przywrócenia prawidłowej struktury i funkcji ściany jelitowej, co Autor tłumaczy zdolnością śladowanych ziaren pszenicy do hamowania apetytu u karmionych zwierząt. Wyjaśnienie mechanizmów tego zjawiska może być inspiracją do podjęcia dalszych interesujących badań nad właściwościami młóta pszennego.

Uwagi:

1. Czy zahamowanie apetytu może być związane z pobudzeniem przez MP komórek ściany jelita do wydzielania hormonów inkretynowych (np. glukagonopodobnego czynnika 1 (GLP-1) przez komórki L?

Wnioski

Rozprawę wieńczą jasno sformułowane wnioski odpowiadające wyznaczonym celom i wynikające z przeprowadzonych badań.



Uwagi:

1. We wnioskach nie ujęto wpływu MP na ekspresję IAP oraz stwierdzonych korelacji pomiędzy endogennymi (ASF, IAP) i bakteryjnymi (LPS, ATP) modulatorami sekrecji jelitowej.
2. W punkcie 6 nie całkiem jest jasne dlaczego antybiotykoterapia była bardziej skuteczna w pobudzaniu aktywności IAP w treści dwunastnicy niż młóto pszenne, (analiza statystyczna nie wykazała istotnej różnicy w aktywność IAP w grupie BMP vs BL; ns).

Podsumowanie

Po dokładnym zapoznaniu się z pracą doktorską lek. wet. Kamila Gruszczyńskiego pt. „Ocena i modyfikacje endogennych czynników przeciwbiegunkowych w jelitach indyków” stwierdzam, że Doktorant wybrał ważny i interesujący temat, zastosował właściwe i nowoczesne metody oraz wysnuł odpowiednie wnioski. Uzyskane wyniki przyczyniają się do wzbogacenia wiedzy na temat postępowania niefarmakologicznego w stanach biegunkowych u indyków. Pragnę zaznaczyć, że poczynione w recenzji uwagi edytorskie nie umniejszają wartości merytorycznej pracy.

W związku z powyższym z pełnym przekonaniem stwierdzam, że oceniana praca spełnia wymogi stawiane rozprawom doktorskim określone ustawą z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym, oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki i zwracam się do Wysokiej Rady Dyscypliny Weterynaria Uniwersytetu Przyrodniczego w Lublinie o dopuszczenie lek. wet. Kamila Gruszczyńskiego do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Ponadto, biorąc pod uwagę bogaty warsztat naukowy, oryginalny charakter przeprowadzonych badań, szeroką i wielopoziomową analizę problemu badawczego oraz istotne znaczenie praktyczne uzyskanych wyników stawiam wniosek o wyróżnienie powyższej pracy

Z poważaniem



Dr hab. n. med. Grażyna Wójcicka

Lublin, 24.08.2022