

Szczecin, dn. 4 września 2026 r.

dr hab. inż. Adam Lepczyński, prof. ZUT
Katedra Anatomii i Fizjologii Zwierząt
Wydział Biotechnologii i Nauk o Zwierzętach
Zachodniopomorski Uniwersytet Technologiczny
w Szczecinie

RECENZJA ROZPRAWY DOKTORSKIEJ

lek. wet. Aleksandry Marzec

pt. „Czy odpowiedź immunologiczna i oksydoredukcyjna organizmu na zastosowanie nanocząstek miedzi zależy od zróżnicowanych funkcji fizjologicznych błonnika pokarmowego?”

zrealizowanej pod kierunkiem

prof. dr. hab. Katarzyny Ognik – promotora

oraz

dr. hab. Bartosz Fotschki – promotora pomocniczego

Podstawą wykonania recenzji jest pismo Pani prof. dr hab. Brygidy Ślaski Przewodniczącej Rady Dyscypliny Zootechnika i Rybactwo w Uniwersytecie Przyrodniczym w Lublinie datowane na dzień 30. czerwca 2026 roku (NE. 5200.3.4.2026), zawierające wskazanie wykonania oceny rozprawy doktorskiej wraz z określeniem spełnienia przez doktorantkę przesłanek zawartych w art. 187 Ustawy o szkolnictwie wyższym i nauce z dnia 20 lipca 2018 roku (Dz. U. z 2024 r. poz 1571 z późn. zm.).

Ocena formalna

Oceniana rozprawa doktorska Pani lek. wet. Aleksandry Marzec opracowana została w formie autoreferatu powstałego w oparciu o cykl recenzowanych artykułów naukowych, stanowiących spójne tematycznie opracowanie opatrzone wspólnym tytułem „Czy odpowiedź immunologiczna i oksydoredukcyjna organizmu na zastosowanie nanocząstek miedzi zależy od zróżnicowanych funkcji fizjologicznych błonnika pokarmowego?”.

Na cykl spójnych tematycznie publikacji wchodzących w skład rozprawy doktorskiej składa się pięć oryginalnych artykułów naukowych opublikowanych w latach 2023 – 2026. Wszystkie artykuły wchodzące w skład ocenianej pracy doktorskiej zostały opublikowane w czasopismach naukowych o światowym zasięgu, znajdujących się w wykazie Journal Citation Report. Ponadto, cechuje je wysoka wartość punktów zgodnie z aktualnym wykazem czasopism punktowanych Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego (MNiSW). Dwa z artykułów opublikowano w czasopiśmie *Nutrients* oraz po jednym w periodykach *Antioxidants*, *Annals of Animal Science* oraz *Journal of Animal and Feed Sciences*. Lista ujętych we wspólny cykl publikacji przedstawiona jest poniżej:

- 1) Cholewińska E., **Marzec A.**, Sołek P., Fotschki B., Listos P., Ognik K., Juśkiewicz J. 2023. The effect of copper nanoparticles and a different source of dietary fibre in the diet on the integrity of the small intestine in the rat. *Nutrients* 15, 7: 1588, DOI: 10.3390/nu15071588 (IF 4,8; 140 pkt. MNiSW) [P1]
- 2) **Marzec A.**, Fotschki B., Napiórkowska D., Fotschki J., Cholewińska E., Listos P., Juśkiewicz J., Ognik K. 2024. The effect of copper nanoparticles on liver metabolism depends on the type of dietary fiber. *Nutrients* 16, 21: 3645, DOI: 10.3390/nu16213645 (IF 5,0; 140 pkt. MNiSW) [P2]
- 3) **Marzec A.**, Cholewińska E., Fotschki B., Juśkiewicz J., Ognik K. 2025. Inulin improves the redox response in rats fed a diet containing recommended copper nanoparticle (CuNPS) levels, while pectin or psyllium in rats receive excessive CuNPS levels in the diet. *Antioxidants* 14, 6: 695, DOI: 10.3390/antiox14060695 (IF 8,2; 100 pkt. MNiSW) [P3]
- 4) **Marzec A.**, Cholewińska E., Fotschki B., Juśkiewicz J., Stępniewska A., Ognik K. 2025. Are the biodistribution and metabolic effects of copper nanoparticles dependent on differences in the physiological functions of dietary fibre? *Annals of Animal Science* 25, 1: 175-187, DOI: 10.2478/aoas-2024-0057 (IF 2,9; 140 pkt. MNiSW) [P4]
- 5) **Marzec A.**, Fotschki B., Cholewińska E., Dworzański W., Juśkiewicz J., Ognik K. 2026. Is the impact of copper nanoparticles on the immune system of rats dependent on the diverse physiological functions of dietary fibre? *Journal of Animal and Feed Sciences* e32. DOI: 10.22358/jafs/215745/2026. (IF 1.9; 100 pkt. MNiSW) [P5]

Łączny współczynnik wpływu (Impact Factor) dla publikacji wchodzących w skład cyklu ujętego w pracę doktorską, zgodny z rokiem ukazania się tych publikacji drukiem wynosi **22,8**. Natomiast, sumaryczna wartość punktów według aktualnej listy czasopism punktowanych MNiSW wynosi **620**.

Chciałbym podkreślić, że wchodzące w skład ocenianej pracy doktorskiej prace naukowe przeszły rygorystyczny proces recenzji, w których dokonano ich merytorycznej i formalnej oceny przez co najmniej dwóch niezależnych recenzentów. Wskazuje to jednoznacznie na wysoką jakość opublikowanych wyników badań. Znaczenie przeprowadzonych badań i ich

wysoką wartość poznawczą podkreśla fakt, że wszystkie z prac wchodzących w skład jednotematycznego cyklu artykułów składającego się na pracę doktorską zostały zrealizowane w ramach grantu Narodowego Centrum Nauki (OPUS21, nr proj. 2021/41/B/NZ9/01104).

Oceniana dysertacja doktorska została opracowana w języku polskim, charakteryzuje ją prawidłowy i typowy dla tego typu prac układ. W strukturze pracy wyszczególniono następujące rozdziały: Wykaz prac naukowych wchodzących w skład cyklu; Wykaz skrótów i akronimów; Streszczenia w języku angielskim oraz języku polskim; Wstęp; Hipoteza badawcza i cel badań; Materiały i metody; Omówienie wyników i dyskusja; Wnioski; Bibliografia; Załączniki.

Doktorantka jest pierwszym autorem w czterech [P2-P5] z pięciu artykułów naukowych stanowiących podstawę pracy doktorskiej, ponadto w jednym z opracowań [P1] znajduje się na drugiej pozycji, jako jeden ze współautorów pracy. Według załączonych do autoreferatu oświadczeń doktorantki oraz współautorów artykułów naukowych wchodzących w skład pracy doktorskiej można stwierdzić, że indywidualny wkład lek. wet. Aleksandry Marzec w ich powstanie był znaczący i obejmował: w przypadku publikacji P2 – P4 udział w ustaleniu koncepcji badań, nadzór na przebiegiem doświadczenia, udział w wykonaniu analiz oraz opracowaniu ich wyników, a także napisanie pierwotnego draftu artykułów. W publikacji P1 udział w przeprowadzeniu analiz i opracowaniu uzyskanych wyników badań, a także zatwierdzenie finalnej wersji manuskryptu.

Zwracając uwagę na powyższe mogę jednoznacznie stwierdzić, że przedstawiona do oceny **praca doktorska nie budzi zastrzeżeń natury formalnej.**

Ocena merytoryczna rozprawy doktorskiej

1. Uzasadnienie podjęcia tematyki badawczej i jej aktualność - wstęp.

Tematyka badawcza podjęta w pracy doktorskiej jest aktualna i koncentruje się na określeniu wpływu włókna pokarmowego zastosowanego w diecie szczurów na odpowiedź organizmu na suplementację miedzi w postaci nanocząsteczkowej (CuNPs). Miedź jest niezbędnym mikroelementem, który uczestniczy w szeregu kluczowych dla życia procesów biologicznych m.in. jako komponent enzymów w procesach oddychania komórkowego (oksydaza cytochromu C) oraz obrony przeciw oksydacyjnej (dysmutaza nadadtlenkowa Cu/Zn), a także w procesach erytropoezy, czy też neurogenezy i przewodnictwa nerwowego (β -hydroksylaza dopaminy). Wykorzystanie nanocząsteczek miedzi jako funkcjonalnego dodatku do diety wiąże się z możliwością objawienia ich Janusowego oblicza. Dwoistość ta wynika z potencjalnych

korzyści (zwiększona biodostępność, właściwości przeciwdrobnoustrojowe), ale i zagrożeń wynikających z ich stosowania (upośledzenie funkcji bariery jelitowej, zdolność do zwiększonej tkankowej akumulacji, możliwość indukcji stresu oksydacyjnego). Zgodnie z zasadą Paracelsusa „*dosis facit venenum*” efekty te mogą być zależne od dawki, stąd konieczne jest ustalenie bezpiecznego dla ludzi i zwierząt poziomu suplementacji maksymalizującego uzyskanie pożądaných efektów, przy jednoczesnym największym możliwym ograniczeniu efektów niepożądanych. Jednocześnie, czynnikiem wpływającym na strawność i biodostępność biopierwiastków w przewodzie pokarmowym jest kompozycja i aktywność mikrobioty jelitowej, a także skład błonnika pokarmowego. Stąd podjęcie badań ukierunkowanych na kompleksową ocenę efektów suplementacji CuNPs, uwzględniających dwa poziomy ich suplementacji, oraz ich modulacji poprzez określone frakcje włókna pokarmowego o odmiennych właściwościach fizyko-chemicznych w diecie zwierząt modelowych są zasadne i odzwierciedlają aktualne potrzeby naukowe.

Zasadność podjęcia zaplanowanych w pracy doktorskiej badań podkreśla także treściwy i dobrze napisany rozdział „wstęp”. Doktorantka rozważa w nim znaczenie miedzi jako biopierwiastka, szczególne cechy nanocząsteczek miedzi, ich odmienną dystrybucję tkankową, a także potencjalne korzyści oraz negatywne skutki ich stosowania. Wskazuje także, na wpływ CuNPs na aktywność i kompozycję mikrobioty jelitowej, podkreślając jednocześnie znaczenie błonnika pokarmowego oraz właściwości fizykochemicznych jego frakcji jako głównego czynnika wpływającego na kształtowanie ekologii przewodu pokarmowego, a także znaczenia produktów fermentacji bakteryjnej tego komponentu diety w regulacji szczelności bariery jelitowej oraz biodostępności pierwiastków. Zaś puenta tego rozdziału wprost prowadzi do celów zrealizowanej pracy doktorskiej

2. Hipoteza badawcza i cel badań

Dla cyklu publikacji ujętych w pracę doktorską postawiona została ogólna hipoteza badawcza zakładająca, że biologiczne efekty oddziaływania miedzi suplementowanej w postaci nanocząsteczek są uzależnione od dawki preparatu oraz mogą być istotnie modyfikowane poprzez właściwości fizyko-chemiczne błonnika pokarmowego w przyjmowanej przez zwierzęta diecie. Rozwinięciem tej hipotezy jest określenie spodziewanych kierunków oddziaływania poszczególnych frakcji włókna pokarmowego z podkreśleniem oczekiwań dotyczących łatwo fermentowalnych jego frakcji, które są potwierdzonymi modulatorami kompozycji i aktywności mikrobioty jelitowej. Z hipotezą koresponduje dobrze sformułowany cel główny, rozbudowany o szczegółowe wskazanie konkretnych analizowanych efektów zastosowanych czynników eksperymentalnych.

3. Materiały i metody

Badania przeprowadzono na modelu szczurzym w oparciu o prawidłowo zaplanowany trwający 6 tygodni eksperyment żywieniowy obejmujący 10 grup zwierząt (samce, $n=10$ w grupie), dwie kontrolne suplementowane węglanem miedzi (II) w dawkach 6,5 oraz 13 mg/kg diet, których źródłem błonnika była celuloza oraz osiem grup eksperymentalnych, które suplementowane były miedzią w postaci nanocząsteczkowej na dwóch poziomach odpowiadającym grupom kontrolnym oraz o zróżnicowanym typie błonnika pokarmowego: celuloza (8%) lub odpowiednio inulina, psylium, pektyna (6%) wraz z celulozą (2%). Doświadczenie przeprowadzono zgodnie z Dyrektywą 2010/63/UE po uzyskaniu stosownego zezwolenia Lokalnej Komisji Etycznej ds. Doświadczeń na Zwierzętach w Olsztynie. W pracy doktorskiej opisano ogólny sposób przygotowania pasz eksperymentalnych, dodatkowo z treści publikacji wynika, że gotowe pasze przechowywane były w temperaturze -70°C w szczelnych opakowaniach, a nanocząsteczki miedzi dodawane były do pasz po ich uprzednim stabilizowaniu w oleju rzepakowym. Jednak z uwagi na wysoką podatność nanocząsteczek miedzi na utlenienie i ich zdolność do utleniania kwasów tłuszczowych, chciałbym zapytać, czy pasze były dodatkowo zabezpieczane przed tym zjawiskiem?

W pracy doktorskiej wskazano poszczególne analizy wykonywane w kolejnych publikacjach wchodzących w skład cyklu artykułów, należy jednak dodać, że stosowne metodyki tych analiz znajdują się w sekcjach „materiał i metody” poszczególnych manuskryptów. Nie jest to błędem ze względu na mnogość wykonywanych oznaczeń. Analizowane wskaźniki dobrano odpowiednio do realizowanych celów doświadczenia. Zastanawia jednak fakt, dlaczego w tak kompleksowym doświadczeniu autorzy nie pokusili się o analizę kompozycji mikrobioty jelitowej? Być może analizy te zostały wykonane w innych doświadczeniach zespołu badawczego lub są planowane w przyszłości. Byłyby one doskonałym uzupełnieniem otrzymanych wyników i pozwoliłyby na ich pełniejszą interpretację. Nie mam uwag do zastosowanych w badaniach analiz statystycznych.

4. Omówienie wyników, dyskusja oraz wnioski

Opis uzyskanych wyników uwidacznia kompleksowość przeprowadzonych badań. Skupiały się one na określaniu wpływu suplementacji CuNPs w dwóch dawkach, rekomendowanej oraz dwukrotnie wyższej, wraz z oszacowaniem wpływu dodatku trzech frakcji włókna pokarmowego jako modulatora dystrybucji, metabolizmu oraz efektów oddziaływania CuNPs. Wyniki wraz z ich dyskusją zaprezentowano w dysertacji w formie sekwencyjnej co ułatwia odbiór szeregu informacji zawartych w poszczególnych opracowaniach. Ich dyskusja

przeprowadzona została prawidłowo z wykorzystaniem adekwatnej literatury przedmiotu. Potwierdzono, że biologiczne działanie nanocząsteczek miedzi zależy zarówno od poziomu ich suplementacji, jak i rodzaju włókna pokarmowego. CuNPs szczególnie w podwyższonej dawce wpływały na wskaźniki integralności jelita cienkiego, nasilając stres oksydacyjny i uszkodzenia DNA oraz modyfikując odpowiedź zapalną, wywierając co niezwykle interesujące działanie antyapoptotyczne. W wątrobie podwyższona dawka CuNPs sprzyjała zaburzeniom metabolizmu lipidów, akumulacji tłuszczu i nasileniu odpowiedzi zapalnej.

Rodzaj włókna pokarmowego zastosowanego w diecie istotnie różnicował odpowiedź organizmu na suplementację CuNPs. Inulina najkorzystniej wspierała równowagę oksydacyjno-redukcyjną przy zalecanym poziomie suplementacji CuNPs, natomiast pektyna i psyllium skuteczniej ograniczały niekorzystne skutki nadmiernej podaży nanocząsteczkowej miedzi. Psyllium zmniejszało akumulację lipidów w wątrobie i obniżało ekspresję wskaźników stanu zapalnego stymulując ekspresję *Zo-1*, a pektyna i inulina ograniczały częściowo natężenie odpowiedzi immunologicznej.

CuNPs charakteryzowały się większą biodostępnością niż tradycyjne źródło miedzi, ale ich nadmierna podaż zwiększała ryzyko akumulacji tego pierwiastka w tkankach. Zastosowanie włókna o właściwościach pęczniących regulowało wydalanie miedzi i ograniczało jej nadmierne gromadzenie. Można więc stwierdzić, że odpowiednio dobrana kompozycja włókna pokarmowego może ograniczać prooksydacyjne, metaboliczne i immunologiczne skutki stosowania CuNPs, przy czym efekt ten może być uzależniony od zastosowanego poziomu suplementacji nanomiedzi.

Pracę wieńczą trzy trafnie sformułowane wnioski puentujące otrzymane wyniki badań. Jednak w świetle otrzymanych wyników, bardzo ciekawym i potrzebnym elementem pracy byłoby wskazanie dalszych perspektyw kontynuacji tak ciekawych badań. Dlatego proszę o ich określenie podczas obrony pracy doktorskiej. Jednocześnie, proszę o odpowiedź na poniższe pytania, które postawione zostały w celu zainicjowania dyskusji i wynikają z ciekawości naukowej:

- 1) W związku z ograniczonymi możliwościami sporządzenia pasz dla zwierząt gospodarskich bazujących wyłącznie na jednym typie włókna pokarmowego, którą z frakcji błonnika wykorzystywanego w doświadczeniu należałoby suplementować w celu zwiększenia bezpieczeństwa stosowania nanocząsteczek miedzi jako dodatku do diety? Czy uzasadnione by było zastosowanie ich mieszaniny jako dodatku funkcjonalnego do diety?

- 2) Czy skuteczną i właściwą formą suplementacji CuNPs byłaby ich immobilizacja na nośniku w postaci określonych frakcji błonnika pokarmowego?
- 3) Jakie zagrożenie niesie suplementacja CuNPs w kontekście zwiększonej przeżywalności komórek nabłonka przewodu pokarmowego, przy jednoczesnym wskazaniu uszkodzeń DNA?

W mojej ocenie uzyskane wyniki w pełni pozwoliły na zweryfikowanie postawionej hipotezy badawczej wskazując na wyższą w porównaniu do tradycyjnie stosowanych form miedzi biodostępność CuNPs, istotny wpływ włókna pokarmowego, jako regulatora aktywności mikrobioty jelitowej, jednocześnie podkreślając znaczenie środowiska jelitowego w regulacji biodostępności, dystrybucji i biotoksyczności CuNPs. Rezultaty pracy wnoszą znaczny wkład w poszerzenie wiedzy z zakresu fizjologii żywienia i biologii eksperymentalnej, a wykorzystanie modelu szczurzego pozwala na wskazanie ich potencjału aplikacyjnego w odniesieniu do nauk o zdrowiu, jak i praktyki zootechnicznej.

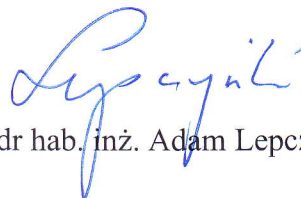
Podsumowanie

Podsumowując bardzo wysoko oceniam dysertację lek. wet. Aleksandry Marzec. Przeprowadzone w ramach pracy doktorskiej badania mają charakter kompleksowy, stanowią rozwiązanie konkretnego problemu naukowego, mają też znaczący wpływ w rozwój nauk podstawowych w zakresie żywienia człowieka oraz zwierząt, a także toksykologii. Realizacja przedstawionej do oceny pracy doktorskiej wymagała dużej wiedzy oraz bogatego warsztatu analitycznego z zakresu biochemii i biologii molekularnej. Kompleksowość badań przeprowadzonych w ramach publikacji wchodzących w cykl stanowiący podstawę pracy doktorskiej, a także mnogość otrzymanych wyników, oceniana przez pryzmat deklarowanego zaangażowania doktorantki w ich realizację, wymagały dużej samodzielności oraz zdolności rozwiązywania problemów naukowych. Ponadto interpretacja uzyskanych wyników wskazuje na obszerną wiedzę doktorantki w zakresie zagadnień obejmujących tematykę ocenianej dysertacji.

Biorąc powyższe pod uwagę stwierdzam, że realizacja rozprawy doktorskiej lek. wet. Aleksandry Marzec pt. „Czy odpowiedź immunologiczna i oksydoredukcyjna organizmu na zastosowanie nanocząstek miedzi zależna jest od zróżnicowanych funkcji fizjologicznych błonnika pokarmowego?” umożliwiła spełnienie przesłanek zawartych w art. 187 Ustawy o szkolnictwie wyższym i nauce z dnia 20 lipca 2018 roku (Dz. U. z 2024 r. poz 1571 z późn. zm.). Dlatego też przedkładam Wysokiej Radzie Dyscypliny Naukowej Zootechnika

i Rybactwo w Uniwersytecie Przyrodniczym w Lublinie wniosek o dopuszczenie doktorantki do dalszych etapów postępowaniu o nadanie stopnia naukowego doktora nauk rolniczych w dyscyplinie naukowej zootechnika i rybactwo.

Ponadto w związku z wysoką wartością naukową dysertacji oraz jej znaczącym potencjałem aplikacyjnym wnioskuję o wyróżnienie rozprawy doktorskiej.



dr hab. inż. Adam Lepczyński, prof. ZUT