

dr hab. Artur Niedźwiedź, prof. nadzw. UPWr

Wrocław 23.04.2019

Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu

Wydział Medycyny Weterynaryjnej

Katedra Chorób Wewnętrznych

z Kliniką Koni, Psów i Kotów

recenzja

pracy doktorskiej mgr Radosława Skórzewskiego

pt.: Chemiluminescencja płynów ustrojowych w wybranych stanach fizjologicznych i patologicznych bydła domowego (*Bos taurus*)

Podstawą formalną recenzji jest uchwała Rady Wydziału Biologii i Ochrony Środowiska Uniwersytetu Mikołaja Kopernika w Toruniu z dnia 15 marca 2019r., w sprawie powołania recenzentów pracy doktorskiej mgr Radosława Skórzewskiego.

Przedstawiona mi do oceny praca doktorska została wykonana pod kierownictwem naukowym Pana dr hab. Wiesława Krumrycha, prof. nadzw. Praca obejmuje 134 strony wydruku komputerowego zawierającego spis treści, wykaz używanych skrótów, treść zasadniczą pracy, 25 tabel, 2 wykresy oraz 154 pozycje piśmiennictwa. Praca ma klasyczny układ na który składają się wstęp, uzasadnienie i cel badań, materiał i metody, wyniki, dyskusja, wnioski, streszczenie w języku polskim i angielskim, bibliografię oraz dokumentacja prowadzonych badań w postaci tabel i rycin.

Zapalenie gruczołu mlekowego (*mastitis*) u krów jest jednostką chorobową przynoszącą olbrzymie straty gospodarcze producentom mleka oraz przemysłowi mleczarskiemu. Jest jedną z głównych jednostek chorobowych występujących w fermie bydła mlecznego. Powstaje na wskutek współdziałania wielu czynników – jest chorobą polietiologiczną. Proces zapalny może powstawać

zarówno na tle zakaźnym z udziałem różnych gatunków i rodzajów drobnoustrojów chorobotwórczych, jak i niezakaźnym jako proces nieswoisty, zapalenie aseptyczne pod wpływem działania urazu mechanicznego lub czynników chemicznych. Zapalenie jest reakcją obronną organizmu, która ma na celu eliminację drobnoustrojów odpowiedzialnych za infekcję, neutralizację ich toksyn oraz uczestnictwo w naprawie uszkodzonych tkanek wydzielniczych i przywróceniu normalnej funkcji gruczoł mlekowego. W zależności od zmian w jakości higienicznej mleka oraz w tkance wymienia spowodowanych stanem zapalnym, rozróżniamy podkliniczną (*mastitis subclinica*) i kliniczną (*mastitis clinica*) postać zapalenia wymienia. Podkliniczna postać *mastitis* stanowi najczęstszy rodzaj zapalenia gruczołu mlekowego w stadzie krów (40-60 %), jest trudno rozpoznawalna przez hodowcę i personel obsługi, ponieważ dotyczy tylko zmian w składzie mleka w postaci zwiększonej ilości komórek somatycznych z obecnością lub nie drobnoustrojów chorobotwórczych. Kliniczna postać zapalenia wymienia charakteryzuje się zmianami morfologicznymi w tkance gruczołowej i mleku. Mogą być to zmiany miejscowe dotyczące tylko gruczołu mlekowego lub całego organizmu. Kliniczne postacie *mastitis* wywoływane są głównie przez gronkowce, paciorkowce i bakterie Coli – podobne. Diagnostyka stanu zapalnego gruczołu mlekowego przebiega głównie poprzez wnikliwą obserwację zwierząt, monitorowanie przebiegu udoju, rejestrację uszkodzeń skóry wymienia. Ponadto, zmiany związane z tą chorobą mogą być wychwycone poprzez fizykalne badanie ćwiartek. Sprawiająca trudności diagnostyczne postać podkliniczna *mastitis*, charakteryzuje się trudno zauważalnymi zmianami w wymieniu oraz mleku. W diagnozowaniu zapalenia wymienia duże znaczenie ma analiza próbek mleka pochodzącego z wstępnego udoju. Wszelkiego rodzaju zmiany barwy, konsystencji, obecność strzępek, kłaczków jest sygnałem do podjęcia leczenia. Pomocne może być także zastosowanie testu TOK (terenowy odczyn komórkowy), umożliwiającego szybką identyfikację zwiększonej liczby komórek somatycznych w mleku. LKS jest kluczowym wskaźnikiem *mastitis* w przypadku stad bydła. Ponadto istnieje szereg metod pozwalających na cytologiczną analizę mleka, jednak nadal poszukiwane są alternatywne metody diagnostyki *mastitis*, w szczególności jej postaci podklinicznej.

Doktorant przygotowując pracę naukową przyjął trzy ambitne cele:

- Opracowanie metodyki oznaczeń CL w krwi pełnej oraz mleku krów z wykorzystaniem luminometru płytkowego

- Ocenę wpływu miejscowego stanu zapalnego na pomiary CL krwi pełnej oraz mleka ćwiartkowego
- Określenie wpływu rui na pomiary CL krwi pełnej oraz mleka ćwiartkowego.

Temat pracy i podjętych badań jest interesujący nie tylko z poznawczego punktu widzenia, lecz również aktualny dla weterynaryjnej praktyki lekarskiej. Doktorant podjął niełatwą próbę kompleksowej i wielostronnej oceny CL obwodowej krwi oraz mleka ćwiartkowego w warunkach eksperymentalnych, zarówno u zwierząt zdrowych, z różnymi postaciami *mastitis* oraz w przebiegu rui indukowanej farmakologicznie. Zdaniem recenzenta należało by jedynie rozważyć zmianę tematu na bardziej precyzyjnie odzwierciedlający badany materiał, gdyż użycie określenia „płyny ustrojowe” przywodzi na myśl znacznie szersze ich spektrum niż tylko krew pełna oraz mleko. Proponowany tytuł po tej drobnej korekcie mógłby brzmieć „Chemiluminescencja krwi obwodowej oraz mleka ćwiartkowego w wybranych stanach fizjologicznych i patologicznych bydła domowego (*Bos taurus*)”.

Zarówno tematyka jak i sposób jej przedstawienia charakteryzują się swobodnym posługiwaniem się technikami badawczymi. Autor każdorazowo dokonuje szczegółowych odniesień do piśmiennictwa, najczęściej dotyczącym tego typu badań u człowieka, oraz pojedynczych badań wykonanych na zwierzętach. Na podkreślenie zasługuje fakt, że część tych badań była pionierska i wymagała od Doktoranta wielu żmudnych prób oceniających zasadność stosowania poszczególnych nastawień aparatu, dodania wzmacniaczy CL w różnych stężeniach oraz objętości itp., jednak sądząc po uzyskanych wynikach, Doktorant w pełni stanął na wysokości zadania i część laboratoryjną przeprowadził wzorowo. Warto, by starania te stały się kanwą do dalszych badań, na szerszym materiale klinicznym, oraz u innych gatunków zwierząt.

Wstęp wprowadza w tematykę pracy podając podstawy teoretyczne dysertacji, obszernie omawia problem we wszystkich jego aspektach, co stanowi dobre wprowadzenie do tematyki badań i uzasadnia cel ich podjęcia. Początek tego rozdziału to wyczerpująco zaprezentowany aktualny stan wiedzy oparty na podstawie dostępnego piśmiennictwa, i prezentuje zagadnienia z zakresu min. opisu zjawiska chemiluminescencji, źródeł i efektów reaktywnych form tlenu oraz przybliża problematykę zapalenia gruczołu mlekowego krów oraz metod synchronizacji rui. W wykazie stosowanych skrótów sugerowałbym jedynie zastosowanie jednolicie polskiego znaczenia, zamiast skrótów angielskich.

Rozdziały **Uzasadnienie i cel badań** oraz **Materiał i metody** oceniam jednoznacznie wysoko. Lektura pierwszej wymienionej części w sposób jednoznaczny wskazuje na potrzebę podjęcia badań przez Doktoranta, które są prezentowane w ocenianej przeze mnie dysertacji. Rozdział **Materiał i metody** wskazuje, że praca została zaplanowana i wykonana prawidłowo, zwraca uwagę rzetelność w podejmowanych badaniach, dokładny opis użytych metod oraz prawidłowo skompletowane i przygotowane grupy badane. Całość sprawia pozytywne wrażenie przemyślanej i dobrze wykonanej pracy. Na podkreślenie zasługuje również fakt, że Doktorant nie ograniczył się tylko i wyłącznie do rekomendacji technicznych producenta aparatu, a opracował własny algorytm, z powodzeniem zastosowany w przebiegu prowadzonych badań.

Zakładane cele realizowano w trzech etapach, na łącznej grupie 211 osobników. Tak liczna grupa zwierząt świadczy o wielkiej staranności z jaką mgr Radosław Skórzewski zaplanował badania. Wyróżnia to prowadzone przez Doktoranta badania na tle innych, w których najczęściej mamy do czynienia z o wiele mniejszą liczebnością osobników w grupach, nieprzekraczającą zwykle kilku lub kilkunastu sztuk. Przeprowadzone analizy statystyczne uzyskanych wyników są adekwatne do zamierzonego celu i są wiarygodne.

W rozdziale **Wyniki** Autor poza opisem słownym, odwołując się do odpowiednich tabel i rycin przedstawia wyniki oznaczeń. W sumie ten rozdział obejmuje 39 stron. Autor kolejno omawia wyniki osiągnięte w trzech etapach doświadczenia, i w poszczególnych grupach badanych. W rozdziale **Dyskusja**, podzielonym zgodnie z etapami prowadzonych badań, Autor komentując uzyskane wyniki badań, przeprowadza ich wnikliwą analizę, i co warto podkreślić, czyni to w sposób krytyczny, wykazując przy tym umiejętność interpretacji. Na podstawie udokumentowanych badań własnych, prowadzi polemikę z innymi, nielicznymi w tym obszarze wiedzy pracami.

Dysertację kończy pięć zwartymi wnioskami logicznie wynikającymi z przeprowadzonych badań.

Ponadto Autor cytuje w pracy 154 pozycje piśmiennictwa krajowego i zagranicznego, wykazane na końcu manuskryptu. W dysertacji porównuje wyniki badań własnych z wynikami innych autorów. Trafny wybór cytowanych pozycji świadczy o dobrym opanowaniu przez Doktoranta zagadnień związanych z zagadnieniami chemiluminescencji, zapaleń gruczołu mlekowego u krów oraz schematów synchronizacji rui i tego gatunku. Wątpliwości budzi jedynie użycie kilku pozycji piśmiennictwa wydanych w latach 80-tych ubiegłego wieku, i użycie ich w kontekście innym niż

historyczny, jednak zaznaczyć należy, że były to pojedyncze przypadki. W zdecydowanej większości, bibliografia jest aktualna i cytowana w odpowiednich miejscach.

Szczególną uwagę w całej pracy zwraca wyjątkowa staranność edytorska dysertacji, napisanej poprawnym językiem polskim. Ilość błędów stylistycznych i edytorskich jest jak na tak objętościowo dużą pracę, znikoma.

Z obowiązku recenzenta chciałbym zwrócić uwagę na pewne niedociągnięcia w pracy, tak aby ich uniknąć na etapie publikacji.

- w wykazie skrótów brakuje wszystkich używanych w tekście, jak choćby PMN
- używania powszechnych określeń przy opisie wyników badań krwi, jak chociażby użycie na str. 74 „zawartości” białek ostrej fazy, podczas gdy chodzi ich stężenie, z kolei na tej samej stronie Autor używa określenia „stężeń” enzymów, podczas gdy powinien użyć określenia „aktywność”
- wielokrotnie w tekście dysertacji pada określenie „przedział wartości prawidłowych”, które należało by zastąpić określeniem „wartości referencyjne”
- zamiast „grupa badawcza”, sugeruję zastosować określenie „grupa badana”

Wymienione powyżej pojedyncze uwagi nie obniżają w żaden sposób wartości pracy, którą oceniam bardzo wysoko. Co więcej, biorąc pod uwagę niezaprzeczalne wartości poznawcze jak i potencjalnie praktyczne, uważam, że praca ta powinna zostać opublikowana w uznanym czasopiśmie naukowym w sposób taki, aby trafiła do rąk nie tylko badaczy, ale i praktyków zajmujących się dobrostanem, leczeniem oraz profilaktyką chorób bydła.

Wniosek końcowy

Podsumowując recenzowaną przez mnie rozprawę doktorską pt. Chemiluminescencja płynów ustrojowych w wybranych stanach fizjologicznych i patologicznych bydła domowego (*Bos taurus*)

autorstwa Pana mgr Radosława Skórzewskiego, oceniam wysoce pozytywnie. Przedłożona praca jest bardzo wartościowa ze względu na aktualność badanego tematu, wybitne wartości poznawcze oraz jej potencjalny aspekt aplikacyjny. Jasno przedstawione cele zostały w pełni zrealizowane.

Oceniana praca spełnia wszystkie wymagania stawiane rozprawom doktorskim i w pełni odpowiada warunkom określonym w art. 13 ust.1 Ustawy z dnia 14 marca 2003 roku o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz stopniach i tytule naukowym w zakresie sztuki (Dz.U. Nr 65, poz.595, z póź. zm.).

W związku z tym przedstawiam Wysokiej Radzie Wydziału Biologii i Ochrony Środowiska Uniwersytetu Mikołaja Kopernika w Toruniu wniosek o przyjęcie rozprawy doktorskiej oraz dopuszczenie jego Autora, mgr Radosława Skórzewskiego do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Ponadto doceniając wysoką wartość poznawczą badań i pracowitość wykonanej pracy wnioskuję do Wysokiej Rady o wyróżnienie dysertacji stosowną nagrodą.

Antoni Kiełpiński