Dr hab. Iwona Puzio prof. uczelni
Katedra Fizjologii Zwierząt
Wydział Medycyny Weterynaryjnej
Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie

Lublin, 31.01.2023

Recenzja pracy doktorskiej lek. wet. Bartosza Micińskiego pt. ,,Wpływ stanu zapalnego macicy wywołanego inokulacją bakterii E. coli na kodowanie chemiczne wyznakowanych neuronów macicznych zwoju przyszyjkowego u świni domowej'' wykonanej w Katedrze Fizjologii Klinicznej Wydziału Medycyny Weterynaryjnej Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego pod opieką naukową prof. dr hab. Jarosława Całki jako promotora oraz dr hab. Michała Bulca prof. UWM jako promotora pomocniczego

Podstawą formalną do wykonania recenzji była uchwała Rady Naukowej Dyscypliny Weterynaria Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego w Olszynie z dn. 2 grudnia 2022 r.

Przedstawiona do oceny rozprawa doktorska zawiera: streszczenia polsko- i anglojęzyczne, wykaz skrótów, wstęp, cel, opis materiałów i metod, omówienie uzyskanych wyników, dyskusję, wnioski, spis pozycji piśmiennictwa, wykaz publikacji będących podstawą dysertacji i ich kopie oraz oświadczenia współautorów.

Podstawą przedstawionej do recenzji pracy doktorskiej jest cykl 2 oryginalnych prac twórczych opublikowanych w 2022 r. w czasopismach anglojęzycznych o zasięgu światowym. W skład cyklu wchodzą następujące prace:

1. Miciński B., Jana B.,. Całka J. Endometritis decreases the population of uterine neuron in the paracervical ganglion and changes the expression of sympathetic neurotransmitters in sexually mature gilts. BMC Vet. Res. 2022 Sep 10; 18 (1):342, IF -2,792, lb pkt. MEiN - 140.
2. Miciński B., Jana B.,. Całka J. Uterine Inflammation Changes the Expression of Cholinergic Neurotransmitters and Decreases the Population of AChE-Positive, Uterus-Innervating Neurons in the Paracervical Ganglion of Sexually Mature Gilts. Animals. 2022 Jun 29; 12 (13):1676, IF – 3,231, lb pkt. MEiN – 100.

Sumaryczny współczynnik wpływu dla 2 prac oryginalnych składających się na cykl wynosi 6,023, natomiast łączna liczba punktów obliczona w oparciu o wykazy czasopism Ministerstwa Edukacji i Nauki wynosi 240. W obu pracach oprócz Doktoranta jest po dwóch współautorów, którzy wkład Doktoranta w powstawanie publikacji określili na 60%. Zgodnie z załączonymi oświadczeniami współautorów Doktorant odegrał pierwszoplanową rolę w opracowaniu koncepcji badań i ich przeprowadzeniu, analizie wyników, wnioskowaniu oraz przygotowaniu manuskryptów do druku. W obu pracach Doktorant jest pierwszym i korespondencyjnym autorem, co potwierdza Jego pierwszoplanową rolę w badaniach będących przedmiotem rozprawy doktorskiej i w przygotowaniu prac do druku.

Z uwagi na fakt, iż podstawą dysertacji jest cykl opublikowanych prac oryginalnych rolą recenzenta było określenie ich spójności tematycznej oraz ocena merytoryczna.

We wstępie manuskryptu pracy doktorskiej Doktorant w zwięzły sposób przedstawił problematykę unerwienia macicy. Wykazał istnienie luki w wiedzy odnośnie wpływu stanu zapalnego macicy u świni domowej na jej unerwienie, w tym kodowanie chemiczne neuronów zwoju przyszyjkowego (PCG), utworzonego przez neurony przywspółczulne, współczulne oraz NANC (nieadrenergiczne-niecholinergiczne).

Opierając się na wynikach nielicznych badań innych autorów, dotyczących kodowania chemicznego neuronów zewnątrzpochodnych w stanach patologicznych macicy, Doktorant postawił 4 cele badawcze, które w mojej ocenie można by ,,zamknąć'' w 2 lub 3 celach (np. przeredagowując i łącząc cele pierwszy i drugi oraz rezygnując z celu czwartego). Doktorant w mojej ocenie za bardzo rozwinął trzeci w kolejności cel pracy, poszerzając go o szczegółowe informacje dotyczące kodowania chemicznego. Niemniej w publikacjach będących podstawą dysertacji cele badawcze są sformułowane w sposób zwięzły. Generalnie celem rozprawy doktorskiej było określenie: 1) rozmieszczenia i liczby neuronów w zwojach PCG (lewym i prawym) oraz ich kodowania chemicznego; 2) zmienności liczbowej i fenotypowej neuronów PCG w warunkach eksperymentalnie wywołanego inokulacją bakterii E. coli stanu zapalnego macicy u dojrzałych loch świni domowej.

W rozdziale ,,Materiał i metody'' Doktorant szczegółowo opisał postępowania badawcze z wykorzystaniem zwierząt doświadczalnych oraz zastosowane w badaniu pobranego materiału biologicznego metody analityczne. Do wyznakowania neuronów zwojów PCG Doktorant zastosował śródoperacyjnie technikę wstecznego znakowania z wykorzystaniem znacznika neuronalnego Fast Blue, zaś do wywołania stanu zapalnego śródoperacyjne domaciczne podanie zawiesiny bakterii E. coli. W analizie materiału biologicznego Doktorant w celu określenia kodowania chemicznego neuronów zaopatrujących macicę zastosował metodę podwójnych barwień immunoflorescencyjnych oraz histochemiczną metodę Karnovsky'ego-Rootsa. Przeprowadził również badania histopatologiczne macicy w celu potwierdzenia wystąpienia stanu zapalnego. W celu wyznakowania populacji neuronów współczulnych jako znacznik wykorzystał beta-hydroksylazę dopaminy (DβH), zaś populacji neuronów przywspółczulnych pęcherzykowy transporter acetylocholiny (VAChT). Potwierdzenia cholinergicznego charakteru neuronów PCG unerwiających macicę dokonał wykazując aktywność acetylocholinoesterazy. Określił również koekspresję DβH z wazoaktywnym pepetydem jelitowym (VIP), neuropeptydem Y (NPY), somatostatyną (SOM) i neuronalną syntazą tlenku azotu (nNOS) oraz koekspresję VAChT z VIP, NPY, nNOS i galaniną (GAL). Należy podkreślić dużą pracochłonność i czasochłonność przeprowadzonych przez Doktoranta analiz. Zastosowany przez Niego układ doświadczalny oraz techniki analityczne pozwoliły na uzyskanie ciekawych wyników.

W rozdziale ,,Wyniki'' Doktorant prezentuje wyniki badań objętych dysertacją w formie opisowej oraz odwołuje się do materiału dokumentacyjnego w postaci tabel, wykresów i fotografii. Na podkreślenie zasługuje bardzo dobra dokumentacja fotograficzna obrazująca kodowanie chemiczne neuronów, jak również jej opis, pozwalający na prawidłowy odbiór i interpretację wyników nawet przez osoby niebędące specjalistami w zakresie podejmowanej przez Doktoranta tematyki badań.

Doktorant wykazał, że skutkiem doświadczalnie wywołanego zapalenia macicy były zmiany w liczbie i fenotypie chemicznym neuronów PCG unerwiających macicę. Prace oryginalne wchodzące w skład cyklu prezentują kompleksowe wyniki w tym zakresie. Doktorant stwierdził, że stan zapalny macicy spowodował zmniejszenie liczby neuronów zwojów PCG unerwiających ten narząd. W wyniku rozwoju stanu zapalnego nastąpił natomiast wzrost populacji neuronów adrenergicznych immunopozytywnych dla VIP, SOM, NPY i nNOS oraz neuronów nieadrenergicznych wykazujących immunoreaktywność dla VIP, SOM i nNOS. Z drugiej strony Doktorant zaobserwował zmniejszenie populacji neuronów immunoreaktywnych tylko dla DβH oraz neuronów ujemnych dla wszystkich badanych substancji. Jako konsekwencję zapalenia Doktorant stwierdził w PCG wzrost liczby: neuronów cholinergicznych VATCh-, VIP- oraz SOM-pozytywnych; neuronów cholinergicznych immunoujemnych dla VIP, SOM i nNOS; neuronów niecholinergicznych immunopozytywnych dla VIP, SOM lub nNOS. W PCG u samic z zapaleniem macicy Doktorant zaobserwował pojawienie się populacji cholinergicznych i niecholinergicznych neuronów GAL-pozytywnych. Doktorant stwierdził również zmniejszenie liczby: neuronów immunoreaktywnych dla VATCh i nNOS; neuronów niewykazujących immunoreaktywności zarówno wobec VATCh, jak i VIP, SOM i nNOS; neuronów AChE-dodatnich. Uzyskane przez Doktoranta wyniki mają dużą wartość poznawczą. Zmiany liczbowe, jak i fenotypowe w zakresie zewnątrzpochodnego unerwienia macicy wskazują na istotne znaczenie neurotransmisji w patomechanizmach rozwoju stanu zapalnego.

Uzyskane wyniki Doktorant omawia i prawidłowo interpretuje w rozdziale „Dyskusja". Ponadto umiejętnie konfrontuje je z wynikami innych Autorów. Ta część opracowania świadczy o dobrej znajomości podejmowanej przez Autora problematyki.

Doktorant sformułował 6 wniosków, które są podsumowaniem przeprowadzonych badań i uzyskanych wyników oraz nawiązują do postawionych celów badawczych. W mojej ocenie są one jednak zbyt szczegółowe i bardzo rozbudowane np. I wniosek – 3 zdania, II – 2, III – 3, IV – 2, V – 3, VI – 2.

W przygotowaniu rozprawy Doktorant odniósł się do 89 anglojęzycznych pozycji literatury powiązanych tematycznie z podejmowaną problematyką badań. Doktorant umiejętnie wykorzystał materiały źródłowe, co umożliwiło analizę i dyskusję uzyskanych wyników.

Z obowiązku recenzenta muszę się odnieść do niewielkich uchybień, których nie ustrzegł się Autor w tekście przedstawionego do recenzji opracowania:

1. W tabelach prezentujących wyniki Doktorant nie zamieścił informacji o istnieniu istotnych statystycznie różnic w wartościach badanych parametrów między grupami. Przedstawia je natomiast w formie opisowej, co jest pewnym utrudnieniem w odbiorze i analizie wyników.
2. W rozdziale „Materiał i metody" Doktorant podaje że wykonał badania histopatologiczne w celu potwierdzenia wystąpienia zapalenia macicy u samic otrzymujących zawiesinę bakterii E. coli. W opisie wyników brak jest natomiast fragmentu odnoszącego się do potwierdzenia wystąpienia zapalenia i stopnia

nasilenia zmian ocenianych w badaniu histopatologicznym. Informację o wystąpieniu ostrego stanu zapalnego Doktorant zamieścił dopiero w rozdziale ,,Dyskusja". Niemniej w opisie wyników wielokrotnie przywołuje istnienie stanu zapalnego macicy u samic, które otrzymały śródoperacyjnie zawiesinę bakterii.

3. Na Ryc. 4, wykresie C (str. 30) przedstawiony jest odsetek neuronów wykazujących lub nie koekspresję DβH i NPY. Natomiast w opisie Ryc. 4 zamiast NPY wymieniona jest galanina tj. ,,... DβH i/lub galaniny (GAL) (C)...''. W pracy cyklu opis jest prawidłowy.
4. W opisie Ryc. 10 (str. 39) w drugim wierszu powinno być raczej ,,...z grup otrzymującej sól fizjologiczną (A, B) i E.coli (C, D)...'' a nie ,,z grup kontrolnej (A, B) i E.coli (C, D)...''. Wynika to z opisu Fig.5 zamieszczonej w pracy oryginalnej opublikowanej w Animals. 2022 Jun29; 12 (13):1676.
5. Autor często używa określenia ,,ilość neuronów". Dla rzeczowników policzalnych (a takie są neurony) używamy raczej określenia liczba.

Powyższe uwagi mają charakter porządkowy i nie umniejszają wartości merytorycznej przedstawionej do oceny dysertacji doktorskiej, którą oceniam bardzo wysoko.

W mojej ocenie cykl prac będących podstawą dysertacji doktorskiej jest spójny tematycznie i koncepcyjnie w zakresie podejmowanej problematyki badawczej. Badania objęte rozprawą doktorską zostały prawidłowo zaplanowane i zrealizowane w oparciu o adekwatne do postawionych celów postępowania badawcze. Na podkreślenie zasługuje bardzo dobry warsztat badawczy Doktoranta, który pozwolił na uzyskanie interesujących wyników o dużej wartości naukowej, wnoszących istotny wkład do dotychczasowej wiedzy odnośnie wpływu zapalenia macicy na kodowanie chemiczne neuronów unerwiających macicę świni domowej. Publikacje będące podstawą dysertacji doktorskiej były już uprzednio poddane ocenie podczas procesów wydawniczych, a o ich poziomie świadczą wysokie wskaźniki bibliometryczne czasopism, w których zostały opublikowane.

Ocena końcowa

Rozprawa doktorska Pana lek. wet. Bartosza Micińskiego pt. ,,Wpływ stanu zapalnego macicy wywołanego inokulacją bakterii E. coli na kodowanie chemiczne wyznakowanych neuronów macicznych zwoju przyszyjkowego u świni domowej'' w mojej ocenie odpowiada warunkom określonym w Ustawie z dnia 20 lipca 2018 (Dz.U. Nr 2018, poz. 1668 z pózn. zm.). Wnioskuję w związku z powyższym do Wysokiej Rady Naukowej Dyscypliny Weterynaria Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego w Olsztynie o dopuszczenie lek. wet. Bartosza Micińskiego do dalszych etapów przewodu doktorskiego. Ponadto biorąc pod uwagę wysoki poziom naukowy pracy wnioskuję o wyróżnienie lek. wet. Bartosza Micińskiego stosowną nagrodą.

Dr hab. Iwona Puzio prof. uczelni