Olsztyn, 27.06.2023

Prof. dr hab. Przemysław Sobiech
Katedra Chorób Wewnętrznych z Kliniką
Wydział Medycyny Weterynaryjnej
UWM w Olsztynie

Opinia o pracy doktorskiej lek. wet. Karoliny Tatarczak

pt. „Wpływ seleninotriglicerydów na status zdrowotny i ekspresję wybranych genów kodujących enzymy uczestniczące w procesach antyoksydacyjnych u małych przeżuwaczy ."

Pracę doktorską lek. wet. Karoliny Tatarczak stanowi opracowanie monograficzne przedstawione w formie manuskryptu. Doktorantka opracowała koncepcję badań, przeprowadziła analizę i interpretację wyników oraz wyciągnęła wynikające z nich wnioski.

Głównym celem badań doktorantki była ocena wpływu seleninotriglicerydów – nowego organicznego preparatu selenowego na status zdrowotny i ekspresję wybranych genów kodujących enzymy uczestniczące w procesach antyoksydacyjnych u jagniąt i koźląt.

Badania przeprowadzono na 12 jagniętach rasy kamienieckiej i 12 koźlętach rasy alpejskiej w wieku 10 dni. Zwierzęta podzielono na 2 grupy: kontrolną i doświadczalną. Grupa doświadczalna przez pierwsze 7 dni trwania eksperymentu była suplementowana doustnie roztworem seleninotriglicerydów w dawce 0,5 mg substancji czynnej na kg masy ciała badanego zwierzęcia. Następnie od wszystkich zwierząt pobrana została krew w 0, (przed podaniem roztworu seleninotriglicerydów w grupie doświadczalnej) 1, 7, 14, 21, i 30 dniu doświadczenia. W 30 dniu doświadczenia jagnięta i koźlęta obu grup zostały poddane eutanazji w celu pobrania od nich próbek mięśni najdłuższego grzbietu, dwugłowego uda, mięśnia sercowego i wątroby.

W zakresie parametrów hematologicznych oznaczano poziom hemoglobiny, liczbę hematokrytową, liczbę krwinek czerwonych i białych oraz obliczono wskaźniki czerwonokrwinkowe (MCV, MCH i MCHC). Oznaczono także stężenie glukozy (GLUC), albumin (Alb), białka całkowitego (TP), kreatyniny (Crea), mocznika (Urea), aminotransferazy asparaginianowej (AST), fosfatazy zasadowej (ALP), gamma-glutamylotranspeptydazy (GGT) i dehydrogenazy mleczanowej (LDH) w surowicy . U wszystkich zwierząt grupy kontrolnej i doświadczalnej oznaczono w surowicy stężenie selenu (Se). Ponadto zbadana została aktywność enzymatyczna peroksydazy glutationowej (GPX) oraz dysmutazy ponadtlenkowej

(SOD). Pobrane próby tkanek mięśnia najdłuższego grzbietu (*m.longisimus dorsi*), mięśnia dwugłowego uda (*m. biceps femoris*) i mięśnia sercowego poddano analizie histopatologicznej w barwieniu HE oraz HBFP. Pozyskane próbki mięśni dwugłowego uda, mięśnia sercowego jagniąt i koźląt oraz mięśnia najdłuższego jagniąt poddano analizie genetycznej i oznaczono ekspresję mRNA wybranych genów kodujących enzymy, biorące udział w procesach antyoksydacyjnych u koźląt i jagniąt, tj. GPX1 i SOD1.

W ramach przeprowadzonych badań lek. wet. Karolina Tatrczak zaobserwowała, że suplementacja roztworem seleninotriglicerydów powoduje istotny wzrost stężenia selenu w 1, 7, 14, 21 i 30 dniu doświadczenia zarówno u jagniąt jak i koźląt, przy czym najwyższe stężenie tego pierwiastka zanotowano w 7 dniu doświadczenia. Podwyższonemu stężeniu selenu w grupach zwierząt suplementowanych seleninotriglicerydami towarzyszył istotny wzrost aktywności GPX i SOD. Badania doktorantki udowodniły, że seleninotriglicerydy są bezpiecznym źródłem selenu (brak negatywnego wpływu na wyniki badań morfologicznych i biochemicznych krwi) u małych przeżuwaczy z wysoką biodostępnością dla organizmu.

Badaniem histopatologicznym, w barwieniu HE tkanki mięśniowej mięśnia najdłuższego grzbietu oraz mięśnia dwugłowego uda u jagniąt i koźląt grupy kontrolnej, wykazano odcinkowe szkliwienie sarkoplazmy z zanikiem poprzecznego prążkowania natomiast barwieniem HBFP u tych samych koźląt i jagniąt stwierdzono zmiany charakteryzujące się martwicą całych włókien mięśniowych z rozpadem sarkoplazmy i zanikiem poprzecznego prążkowania oraz obecnością pobudzonych komórek miogenicznych i komórek fagocytarnych. Zmiany te wskazywały na występowanie u tych zwierząt podklinicznej formy pokarmowej dystrofii mięśni o niewielkim nasileniu.

Analiza ekspresji genu GPX1 i SOD1 nie wykazała istotnych różnic statystycznych między grupami. Po suplementacji seleninotriglicerydami zauważono nieznaczny wzrost ekspresji genu GPX1 w przypadku mięśnia dwugłowego i wątroby u koźląt oraz podobnego stopnia wzrost ekspresji genu SOD1 w przypadku badanych fragmentów wątroby u koźląt, a także m. najdłuższego grzbietu wątroby i mięśnia sercowego u jagniąt. W przypadku m. najdłuższego grzbietu, m. sercowego i wątroby u jagniąt, a także mięśnia sercowego u koźląt obserwowano spadek aktywności ekspresji genu GPX1. Podobnie spadek ekspresji genu SOD1 zaobserwowano w przypadku mięśnia dwugłowego uda jagniąt i m. dwugłowego uda oraz serca u koźląt. Wyniki te wskazują na brak istotnego wpływu suplementacji seleninotriglicerydami na poziom ekspresji genów GPX1 i SOD1 i wynikają prawdopodobnie z dosyć krótkiego, bo tylko 7 – dniowego okresu ich podawania i tym samym braku możliwości wpływu na aktywację mechanizmów molekularnych w 30 dniu doświadczenia.

Uzyskane w ramach pracy doktorskiej lek. wet. Karoliny Tatarczak wyniki dostarczają nowych informacji na temat możliwości suplementacji związkami organicznymi selenu u małych przeżuwaczy, przyczyniają się do rozwoju wiedzy dotyczącej wpływu tego pierwiastka na regulację niektórych procesów molekularnych i jednocześnie stanowią przyczynek do kolejnych wyzwań naukowych.

W mojej opinii praca doktorska lek wet. Karoliny Tatarczak jest odpowiednio przygotowana, ma charakter nowatorski, opiera się na prawidłowo zaplanowanym i przeprowadzonym doświadczeniu, a uzyskane wyniki istotnie rozszerzają wiedzę z danego zakresu.

Prof. dr hab. Przemysław Sobiech