dr hab. Izabella Dolka
Instytut Medycyny Weterynaryjnej
Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie
ul. Nowoursynowska 159, 02-776 Warszawa

Warszawa, 19.08.2024 r.

Recenzja rozprawy doktorskiej

lek. wet. Koriny Michalskiej

pt. „Wpływ kapłonowania i wieku na obraz morfologiczny wybranych tkanek i narządów wewnętrznych kogutów Rhode Island Red"

wykonanej pod opieką naukową promotora dr hab. Michała Geska, prof. UWM w Katedrze Anatomii Patologicznej Wydziału Medycyny Weterynaryjnej Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego w Olsztynie

1. Podstawa formalna opracowania recenzji

Podstawą formalną do opracowania recenzji rozprawy doktorskiej lek. wet. Koriny Michalskiej jest Uchwała Nr 16/2024 Rady Dyscypliny Weterynaria Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego w Olsztynie z dnia 28 czerwca 2024 r. na podstawie art. 190 ust.2 ustawy z dnia 20 lipca 2018 – Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz.U. z 2023, poz. 742) w związku z art. 179 ust. 7 ustawy z dn. 3 lipca 2018 r. Przepisów wprowadzających ustawę Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz.U. poz. 1669) oraz na podstawie § 14 ust. 2 pkt 2 Statutu Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego w Olsztynie z dnia 21 maja 2019 r. , w sprawie Statutu Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego w Olsztynie (ze zm.), w związku z §13 Załącznika Nr 3 do Uchwały Nr 552 z dn. 20 września 2019 r. wprowadzającej procedurę postępowania w sprawie nadania stopnia doktora.

2. Ogólna charakterystyka rozprawy – ocena struktury formalnej rozprawy

Rozprawa doktorska lek. wet. Koriny Michalskiej pt. „Wpływ kapłonowania i wieku na obraz morfologiczny wybranych tkanek i narządów wewnętrznych kogutów Rhode Island Red" liczy 114 stron. Praca jest starannie przygotowana z niewątpliwą dbałością i wyczuciem tematu. Przeczytałam ją z dużym zainteresowaniem. Jest napisana w sposób poprawny językowo, przejrzysty i przystępny. Na pracę składają się następujące rozdziały: **Streszczenie** (w języku polskim i j. angielskim), **Wstęp** złożony z 5 podrozdziałów: Rys historyczny, Produkcja kapłonów obecnie – na świecie i w Polsce, Metody kastracji kogutów, Charakterystyka rasy Rhode Island Red, Obecny stan wiedzy na temat kapłonów; **Cele pracy; Materiał i metody** złożony z 2 podrozdziałów: Odchów ptaków – warunki środowiskowe i żywieniowe oraz

Schemat badania, pobieranie prób do badań morfologicznych; **Analiza statystyczna; Wyniki**; w tym rozdziale Doktorantka wyodrębniła 5 podrozdziałów opisując uzyskane wyniki produkcyjne oraz oznaczania poziomu testosteronu, oceny histopatologicznej mięśni szkieletowych oraz narządów wewnętrznych, oceny kumulacji tkanki tłuszczowej w mięśniach szkieletowych (w dwóch lokalizacjach) oraz analizę morfometryczną włókien mięśnia piersiowego; **Dyskusja; Wnioski** oraz **Piśmiennictwo.**

3. Ocena problematyki badawczej – sformułowanie problematyki, aktualność podjętego zagadnienia naukowego

Rozprawa doktorska lek. wet. Koriny Michalskiej dotyczy produkcji mięsa kapłonów pozyskiwanych od rodzimej rasy kury domowej Rhode Island Red (w Polsce znana jako karmazyn), należącej do typu nieśnego średnio-ciężkiego, (ogólnoużytkowego), która jest objęta programem ochrony bioróżnorodności. Autorka pracy we Wstępie tłumaczy dlaczego podjęła się tej problematyki i trafnie wyjaśnia istotne kwestie z nią związane, tj. kwestie związane ze zwiększonym spożyciem mięsa drobiowego, ochroną środowiska i dobrostanem zwierząt (ekologiczne praktyki w produkcji drobiarskiej), kwestie etyczne (eutanazja niechcianych jednodniowych piskląt kogutków), także zdrowego i racjonalnego odżywiania (wzrastająca świadomość zdrowotna w społeczeństwie, rezygnacja z masowo wytworzonego drobiu na rzecz mięsa wysokiej jakości, o unikalnych walorach sensorycznych). Autorka przedstawiła aktualny stan badań nt. kapłonów na świecie i w Polsce w zakresie oddziaływania kapłonowania kogutów na skład tuszki, jakość mięsa określaną chemicznie i sensorycznie, u różnych ras kur, wpływ na układ odpornościowy, zachowanie ptaków, jak również Autorka szczegółowo opisała stosowane metody kastracji kogutów i ich wpływ na efekty produkcyjne. Doktorantka zawarła informacje na temat rasy Rhode Island Red oraz szczegółowo scharakteryzowała produkcję kapłonów i spożycie kapłonów od czasów datowanych przed nasza erą (podrozdz. Rys historyczny) do czasów obecnych, gdy jako relikt zapomnianej kuchni staropolskiej ponownie zyskują na popularności. Podsumowując, wybór tematu rozprawy doktorskiej należy uznać za trafny, zasadny naukowo oraz ważny w perspektywie zmieniających się trendów konsumenckich, jak i wzrastających potrzeb i oczekiwań konsumentów.

4. Ocena merytorycznej wartości pracy

Cel rozprawy

Opierając się na danych z piśmiennictwa Doktorantka w sposób jasny i prawidłowy sformułowała główną hipotezę jako główny cel dysertacji: czy kastracja chirurgiczna może powodować zmiany na poziomie tkankowym na skutek trwałego obniżenia poziomu

testosteronu. Autorka przyjęła za zbadanie osiem celów szczegółowych. U kapłonów i kogutów w poszczególnych etapach odchowu przeprowadziła ocenę występowania zmian histopatologicznych w wybranych mięśniach szkieletowych, ocenę lokalizacji i koncentracji tkanki tłuszczowej, średnicy włókien mięśniowych i włókien olbrzymich, zmian histopatologicznych w narządach wewnętrznych, wykonała analizę kumulacji tkanki tłuszczowej oraz koncentracji utkania limfatycznego w narządach wewnętrznych. Atutem pracy są postawione i zrealizowane cele utylitarne: określenie optymalnego wieku kapłonów do uboju (biorąc pod uwagę masę ptaków, koncentrację tkanki tłuszczowej w mięśniach i zmiany histopatologiczne w narządach i mięśniach szkieletowych) oraz ustalenie, czy koguty Rhode Island Red mogą być wykorzystywane do produkcji kapłonów.

Znajomość wykorzystanej w pracy literatury

Przystępując do realizacji pracy Doktorantka opracowała literaturę w sposób rzetelny pozwalając czytelnikowi zapoznać się z podjętą problematyką. Doktorantka zamieściła wykaz 74 pozycji piśmiennictwa, w tym krajowego (tj. 9 pozycji, co stanowiło 12%) i obcojęzycznego (65 pozycji, co stanowiło 88%), głównie z lat 2002 – 2023, które zostały uporządkowane alfabetycznie. W tym miejscu chciałabym zwrócić uwagę na skrupulatność w zbieraniu literatury jaką wykazała się Doktorantka cytując tekst starodruku z XVIII wieku autorstwa polskiego księdza i przyrodnika Jana Krzysztofa Kluka, który jako jeden z pierwszych opisał kapłony, dając solidną podstawę do badań nad tym zagadnieniem. Trzeba zaznaczyć, że pani lek. wet. Korina Michalska poradziła sobie z zebraniem aktualnego piśmiennictwa do przedyskutowania otrzymanych wyników (26 prac), co nie było łatwe, gdyż prezentowane tu badania mają charakter niszowy, wręcz specjalistyczny i są nieliczne. Warto podkreślić, że Doktorantka posiada dobrą znajomość poruszanej tematyki, o czym może świadczyć jej współautorstwo w dwóch cytowanych w rozprawie publikacjach z 2019, autorstwa promotora dr hab. Michała Geska, prof. UWM, który jest niekwestionowanym ekspertem w obszarze patologii drobiu.

Metodyka zastosowana w pracy

Dla osiągnięcia założonych celów pracy Autorka przeprowadziła doświadczenie zgodnie z zezwoleniem Lokalnej Komisji Etycznej w Olsztynie - nr 16/2014 - 26.02.2014 oraz Rozporządzeniem Komisji (WE) nr 543/2008. Grupę badawczą stanowiło dwieście jednodniowych kogutów rasy Rhode Island Red. Pani Michalska przyjęła do realizacji szeroki zakres prac według ustalonego schematu: podzielenie ptaków na grupę badawczą (kapłony) oraz kontrolną (koguty), rejestrowanie masy ciała ptaków, spożycie paszy, pobieranie krwi do oznaczeń poziomu testosteronu, pobieranie wycinków z 16 narządów wewnętrznych ptaków,

mięśnia piersiowego oraz mięśnia udowego w określonym tygodniu chowu. Wysoko należy ocenić zakres badań mikroskopowych, który obejmował szczegółową ocenę zmian histopatologicznych: ocenę jakościową (rodzaj zmiany) i ilościową (ocena stopnia nasilenia/zaawansowania danej zmiany) w materiale barwionym hematoksyliną i eozyną (H-E). Doktorantka analizowała tkankę tłuszczową w mikroskopie świetlnym po zabarwieniu preparatów metodą H-E, jak również w wycinkach mięśni barwionych czerwienią oleistą. Ponadto pani Michalska za pomocą skanera z dedykowanym oprogramowaniem wykonała analizę morfometryczną włókien mięśniowych. Uzupełnienie badań przez ocenę lokalizacji, koncentracji tkanki tłuszczowej oraz pomiary włókien za pomocą dodatkowych analiz ma znaczenie dla wiarygodności wyników i wartości merytorycznej rozprawy.

Ocena odpowiedzi na pytania badawcze. Przydatność wyników w praktyce

Wyniki zostały przedstawione w formie opisowej oraz za pomocą 9 tabel i 27 dużych i czytelnych rycin dokumentujących rezultaty badania histopatologicznego. Autorka zaprezentowała uzyskane zależności pomiędzy grupami badawczymi (kapłonami) a grupami kontrolnymi (kogutami) w sposób jasny i logiczny przedstawiając etapy swojej pracy. Drobna sugestia dotyczy Tabeli 5 przedstawiającej stopień kumulacji tkanki tłuszczowej w mięśniach, chociaż jest ona przejrzysta, to być może korzystniejsze byłoby zobrazowanie tych wyników w postaci wykresów słupkowych i tym samym porównanie intensywności gromadzenia tkanki tłuszczowej w różnych okresach odchowu. Oceniając tę część rozprawy należy podkreślić i docenić ogromny nakład pracy włożony w wykonanie charakterystyki morfologicznej. Doktorantka wyciągnęła 7 jasno sformułowanych wniosków na podstawie uzyskanych wyników, które stanowią wyczerpującą odpowiedź na postawione cele badawcze. Doktorantka wykazała istotne różnice w występowaniu tkanki tłuszczowej w mięśniach pomiędzy kogutami a kapłonami, a w szczególności większą intensywność kumulacji tkanki tłuszczowej w mięśniach udowych u kapłonów od 16 tygodnia wokół naczyń krwionośnych, w omięsnej i śródmięsnej, co jest obserwacją pożądaną. Ponadto, w dalszej części Autorka uzyskała interesujące wyniki odnośnie średnicy włókien mięśniowych oraz włókien olbrzymich w mięśniu piersiowym, wykazując ich zmniejszanie się w tracie całego badania, jak również drobniejsze włókna mięśniowe i włókna olbrzymie, odpowiednio u kapłonów w 12. i 16. tygodniu odchowu i w 12. i 20. tygodniu odchowu. Co więcej, mając na względzie poszukiwanie skutków kastracji na występowanie zmian morfologicznych oraz ich intensywność Doktorantka przeprowadziła wnikliwą analizę mikroskopową obejmującą wiele narządów, co pozwoliło stwierdzić brak negatywnego wpływu kastracji na zmiany morfologiczne oraz na zanik tkanki limfatycznej w narządach limfatycznych

i w pozostałych narządach wewnętrznych. Przeprowadzone badania wprawdzie umożliwiają wyciągnięcie takich wniosków, ale z zaznaczeniem, że nie badano wpływu kapłonowania na układ kostno-stawowy. Doktorantka słusznie zaznacza, że niezbędne są dalsze badania ustalające zależność pomiędzy kastracją ptaków a statusem immunologicznym. Na podstawie kolejnych badań pani Michalska wykazała większą kumulację tkanki tłuszczowej w narządach wewnętrznych (np. w żołądku mięśniowym i mięśniu sercowym) u kapłonów, co jest korzystną cechą w narządach/podrobach jadalnych gdyż podnosi ich walory kulinarne. Na pochwałę zasługuje to, że Autorka w trakcie Dyskusji przemyślanie analizuje a następnie podsumowuje własne wyniki, nie tylko w sposób wnikliwy wydobywa drobne różnice wyników uzyskanych przez innych badaczy, ale także potrafi ostrożnie je przedyskutować na tle danych literaturowych. Na podkreślenie zasługuje omówienie praktycznego znaczenia uzyskanych wyników, co świadczy o dobrej znajomości poglądów badaczy na temat podjętej problematyki badawczej oraz umiejętności interpretowania uzyskanych danych. W mojej opinii postawiona w rozprawie hipoteza została udowodniona przez Doktorantkę a wyjaśnienie jej słuszności ma zarówno aspekt poznawczy, jak i duże znaczenie praktyczne. Pani lek. wet. Michalska na podstawie przeprowadzonych analiz potwierdziła możliwość wykorzystania kogutków rasy Rhode Island Red do produkcji kapłonów oraz określiła ich optymalny wiek do uboju, a porównując wyniki badań do innych ras kur wykazała, że rasa Rhode Island Red może być lepszym wyborem. Wyniki badań wykorzystania rodzimej rasy kur wpisują się do strategii zachowania bioróżnorodności polskich obszarów wiejskich, mają znaczenie kulturowe oraz historyczne, gdyż konsumenci coraz częściej deklarują chęć spożywania produktów pochodzących z gospodarstw ekologicznych.

5. Uwagi i pytania

Należy podkreślić, że Doktorantka przygotowała rozprawę starannie, jednakże analizując jej treść można dostrzec kilka niedociągnięć, błędów edytorskich czy stylistycznych, które nie umniejszają jej wartości merytorycznej niemniej warto je wyjaśnić i poprawić.

1) Pewien niedosyt recenzenta budzi brak szczegółowych informacji dot. sposobu oceny intensywności rozpoznawanych zmian morfologicznych w ocenianych narządach, np. intensywność zaniku limfocytów T w grasicy i w bursie Fabrycjusza, zwyrodnienia tłuszczowego hepatocytów, czy poziomu spermatogenezy. Autorka podała tylko, że stosowała skalę: 3-punktową: niska (+), umiarkowana (++) i wysoka (+++), ze względu na brak podanego cytowania, prawdopodobnie jest to skala własnego autorstwa. W metodyce należało dokładnie opisać parametry oceny – liczbę pól widzenia, powiększenie obiektywu i okularu oraz

szczegółowe wytyczne poszczególnych zmian – przyjęte wartości maksymalne i minimalne dla danej kategorii. Szkoda jednak, że Doktorantka nie postarała się o omówienie skali w tabeli.

2) W przypadku oceny tkanki tłuszczowej mięśni Autorka podała cytowanie odnośnie stosowanej metodyki, jednak zabrakło opisania w/w wytycznych. Maksymalnie konkretny i precyzyjny opis określający poziom danej cechy pozwoliłby innym badaczom na możliwie najlepszą powtarzalność wyników prowadzonych badań. Z kolei stosowanie takiej metodyki zapewnia wysoką standaryzację. Niestety w wielu przypadkach brak powtarzalności wynika z nieprecyzyjnego opisu metod w opublikowanych badaniach.

3) Doktorantka umieściła informację o mierzeniu minimum 100 włókien mięśniowych w każdym badanym przypadku, jednak nasuwają się tutaj pytania: a) na jakiej podstawie wybierano włókna do pomiarów, b) jakimi kryteriami kierowano się w wyborze włókien olbrzymich, c) ile wykonywano pomiarów dla jednego włókna, d) jakie obszary były pomijane a jakie uwzględniane w ocenie.

4) W literaturze opisywano pomiar włókien mięśniowych za pomocą średnicy Fereta (MFD, Feret H, Fret V) z zastosowaniem wizualizacji włókien kolagenowych metodą Masson's Trichrome (MT) lub czerwienią Syriusza (Briguet A et al. *Neuromuscul Disord.* 2004, doi: 10.1016/j.nmd.2004.06.008; Pertl C et al. *BMC Musculoskelet Disord.* 2013, doi: 10.1186/1471-2474-14-26). Czy Doktorantka rozważała wykorzystanie tej metody w swoich badaniach?

5) Wstęp podrozdz. 3.2 'Produkcja kapłonów obecnie – na świecie i w Polsce' zyskałby gdyby oprócz ras kogutów podano dane liczbowe lub/i procentowe dotyczące produkcji i spożycia kapłonów w Polsce, wg województw, miejsce Polski pod kątem eksportu mięsa kapłonów.

6) Wstęp podrozdz. 3.2 'Charakterystyka rasy Rhode Island Red' warto uzupełnić o informacje: w jakim wieku karmazyny dojrzewają płciowo, nioski rozpoczynają nieśność, jak długo są utrzymywane, trwa produkcja nieśna oraz wyjaśnienie dlaczego 8 tydzień życia został wybrany jako termin kastracji kogutków tej rasy, a 28 tydzień jako koniec doświadczenia.

7) We Wstępie podrozdz. 3.3. 'Metody kastracji kogutów' Doktorantka szczegółowo opisała metodę chirurgiczną oraz immunokastrację, zalety i zastosowanie obu metod na świecie, jak i powikłania pozabiegowe. Czy Doktorantka mogłaby się odnieść do przeprowadzanych zabiegów kastracji chirurgicznej kogutów, jaki jest odsetek śmiertelności?

8) Autorka wykazała gromadzenie kropli lipidowych w sarkoplazmie włókien mięśni udowych z wykorzystaniem barwienia czerwienią oleistą, z kolei w przypadku mięśnia sercowego - zwyrodnienie kardiomiocytów z wakuolizacją. Nasuwa się pytanie, dlaczego zrezygnowano z oceny występowania lipidów w kardiomiocytach z zastosowaniem czerwieni oleistej?

9) Streszczenie w języku polskim i angielskim, choć oddaje charakter pracy, jest zbyt długie, każde obejmuje pełne 3 strony.

10) Brakuje rozwinięcia niektórych skrótów w tekście rozprawy, np. FAO, PSE, RIR; P oraz W w Tabelach 2, 3, 6; Warto również dodać w tekście nazwy łacińskie badanych mięśni piersiowych i mięśni udowych.

11) Uważam, że rozdział 'Analiza statystyczna' powinien być włączony do rozdz. 'Materiał i metody' jako podrozdział, z kolei informację o zastosowanym programie statystycznym StatSoft Inc. 2010. STATISTICA, version 10. StatSoft Inc., Tulsa, OK, USA. przenieść z rozdziału 'Piśmiennictwo' do 'Analiza statystyczna'.

12) To, co odbieram jako pewną niedogodność przy czytaniu pracy to brak numeracji celów szczegółowych i odpowiednio do nich ponumerowanych wniosków.

13) W części opisowej wyników czy w Tabeli 2, Tabeli 3 oraz Tabeli 6 brakuje informacji o liczbie (n) ptaków uwzględnionych w analizie, z kolei w Tabelach 4, 5, 7 Doktorantka umieściła liczbę n=6 w tytule pierwszego wiersza 'Zmiany morfologiczne', co wprowadza w błąd czytelnika sugerując, że badano 6 zmian. Numer i tytuł tabeli powinien znaleźć się nad tabelą (dot. Tabeli 7, która obejmuje trzy strony oraz Tabeli 8).

14) W Tabeli 4 ogniskowa defragmentacja włókien w mięśniu piersiowym była odnotowana u 15 kogutów zamiast 13.

15) Rycinie 6 i 7 brakuje informacji o zastosowanym powiększeniu lub skali powiększenia.

16) Doktorantka nie ustrzegła się drobnych literówek, błędów, ale muszę przyznać, że zdarzały się one rzadko (np. str. 35 'określenie optymalnego wieku kapłonów do oboju', powinno być **u**boju; str. 49 'ptaki z umiarkowana**[ą]**'; str. 50 'kropelek lipidowych **[w]** sarkoplazmie'; str. 61'Zmiana ta został**[a]**'; str. 48. Ryc.8. należy dodać '**i eozyną**'; str. 80 ...do starszych, **[c]**o pozwoliło; str. 86 etapie doświadcza**[e]**nia; 'i kapłonów a jedyn**[i]**e u młodszych'; str. 52 'koncentracja tłuszczy' powinno być tłuszczów; str.79 'przekrwienia naczyń krwionośnych i przekrwienia naczyń włosowatych w kłębuszkach' należy usunąć 'naczyń krwionośnych i naczyń włosowatych', ponieważ przekrwienie z definicji odnosi się do stopnia wypełnienia naczyń krwionośnych krwią; str. 103 'niższy ubytek utkania limfatycznego' powinno być niewielki czy mały ubytek lub niewielkiego stopnia zmniejszenie utkania limfatycznego; Doktorantka używała sformułowań 'Total' (str. 63 i 65 w Tab.7), co jest kalką z języka angielskiego; również określeń 'komórki zapalne', 'pęcherzyki' w torbie Fabrycjusza, choć zostały one zaczerpnięte z języka angielskiego to w opinii recenzenta w dysertacji poprawne jest użycie określeń 'naciek zapalny' lub 'naciek komórkowy zapalny'; 'grudki limfatyczne'

zamiast pęcherzyki w torbie Fabrycjusza; str. 93 'u kapłonów w porównaniu z kapłonami' powinno być 'u kapłonów w porównaniu z kogutami'.

17) W 'Piśmiennictwie' trzeba poprawić cytowanie prac pod numerami 16, 17, i 18 autorstwa Chen i wsp. (chodzi o zapis autorów; wg mnie praca nr 16 powinna być 2010 a zamiast b) oraz cytowanie rozdziału z atlasu podane pod nr 25, przykładowo na: Fletcher, O. J., and Abdul-Aziz T.: Lymphoid system. In Fletcher, O.J. and Abdul-Aziz, T. H.J., editors. Avian histopathology, 3rd edition, American Association of Avian Pathologists (AAAP), Jacksonville, FL, 2008, pp. 24–57; w publikacji nr 52 zapis roku publikacji.

Przedstawione powyżej uwagi nie umniejszają mojej pozytywnej oceny niniejszej dysertacji, chociaż głównie dotyczą sposobu przygotowania monografii naukowej to mogą być pomocne w przygotowywaniu artykułów naukowych.

6. Wniosek końcowy

Stwierdzam, że przedstawiona mi do recenzji rozprawa doktorska lek. wet. Koriny Michalskiej pt. „Wpływ kapłonowania i wieku na obraz morfologiczny wybranych tkanek i narządów wewnętrznych kogutów Rhode Island Red" jest oryginalnym i bardzo wartościowym dorobkiem naukowym o znaczeniu poznawczym oraz aplikacyjnym. Spełnia ona wymogi i warunki stawiane rozprawom doktorskim zgodnie z art. 187 ustawy z dnia 20 lipca 2018 – Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz.U. z 2023, poz. 742). Wnioskuję do Rady Dyscypliny Weterynaria Wydziału Medycyny Weterynaryjnej Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego w Olsztynie o przyjęcie rozprawy doktorskiej i dopuszczenie Pani lek. wet. Koriny Michalskiej do dalszych etapów postępowania w sprawie nadania stopnia doktora.

Dr hab. Izabella Dolka

Izabella Dolka

.....