Szczecin, 8.03.2024r.

Recenzja rozprawy doktorskiej lek.wet. Wojciecha Trybowskiego pt.: *„Wpływ jednoczesnego podawania toksyny T-2 i zearalenonu na kształtowanie się odsetka wybranych subpopulacji limfocytów B i T oraz wydzielanie cytokin w ścianie jelita biodrowego świń"*, którą wykonał pod kierunkiem Pana dr hab. Kazimierza Obremskiego, prof. UWM oraz Pana dr wet. inż. Pawła J. Wojtachy w Katedrze Prewencji Weterynaryjnej i Higieny Pasz Wydziału Medycyny Weterynaryjnej Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego. Recenzja została wykonana na zlecenie Rady Naukowej Dyscypliny Weterynaria zgodnie z pismem z dnia 18.02.2024 r. podpisanym przez Przewodniczącego Rady Naukowej Dyscypliny Weterynaria – Prof. dr hab. Tomasza Maślankę

I. Ogólna charakterystyka pracy

Rozprawa doktorska lek.wet. Wojciecha Trybowskiego liczy 74 strony, na których wyróżniono następujące, klasyczne dla tego rodzaju prac, elementy, tj. wykaz skrótów, streszczenie, wstęp, cel pracy, materiał i metody, wyniki, dyskusja, wnioski i literatura, licząca 154 pozycje. Konstrukcja pracy nie budzi zastrzeżeń. Praca napisana jest poprawnie językowo, choć zawiera potknięcia edytorskie, stylistyczne i gramatyczne, które nie umniejszają jej walorów merytorycznych. Praca dotyczy ciekawego zagadnienia, bardzo ważnego z punktu widzenia praktyki weterynaryjnej, tj. wpływu wybranych mikotoksyn (T-2 i zearalenonu) na wybrane parametry immunologiczne układu odpornościowego jelita biodrowego świni. Powszechnie wiadomo, że mitotoksyny występują w środowisku, stanowiąc poważne zagrożenie dla zdrowia i życia ludzi i zwierząt. Mimo ścisłych regulacji w Unii Europejskiej dotyczących ich zawartości w żywności i paszach, mogą stanowić niebezpieczeństwo, także w odniesieniu do zaburzenia homeostazy w układzie odpornościowym. Stąd podjęte badania są potrzebne i zwracają uwagę na kluczowy dla zdrowia problem odporności lokalnej kształtującej

UNIWERSYTET SZCZECIŃSKI
INSTYTUT BIOLOGII

dr hab. Paulina Niedźwiedzka-Rystwej, prof. US
Uniwersytet Szczeciński | Instytut Biologii
Zespół Immunologii Doświadczalnej i Immunobiologii Chorób Zakaźnych i Nowotworowych
ul. Felczaka 3c, 71-412 Szczecin, pok. 113
e-mail: paulina.niedzwiedzka-rystwej@usz.edu.pl
tel.: (+48) 509 572 155
https://immuno.usz.edu.pl/

się w układzie pokarmowym, wpływającej pośrednio na tolerancję pokarmową, ale także na ogólny status immunokompetencji organizmu.

W pracy Autor właściwie wybrał i zastosował metody badawcze, skrupulatnie opisał wyniki badań, a także dokonał dyskusji uzyskanych wyników z innymi pracami z tego zakresu. Jest to praca słusznie osadzona w naukach weterynaryjnych, poruszająca ważny problem badawczy, doceniam jej powstanie jako ważną kontrybucję w rozwój dyscypliny.

II. Ocena merytoryczna pracy

1. Wstęp

Wstęp pracy liczy 15 stron i jest napisany bardzo przystępnie i logicznie, choć w mojej opinii wykorzystanie piśmiennictwa jest dość skromne. Autor poprawnie odniósł się do wielu zagadnień istotnych w zakresie funkcji i roli mikotoksyn oraz ich immunomodulacyjnego działania. Ze względu na dość skromne dane literaturowe dotyczące wpływu T-2 i ZEN przedstawione we wstępie, sugerowałabym opisać je w jednym podrozdziale, w trakcie przygotowywania pracy do druku. Co więcej, warto byłoby rozszerzyć informacje chociażby o zidentyfikowane niedawno (co prawda w innych modelach, ale jest to pewien kierunkowskaz) geny warunkujące immunotoksyczność zearalenonu (polecam publikację How CM i wsp. Ecotoxicol Environ Saf. 2024, 272:116085) i proszę o komentarz w trakcie obrony. Bardzo doceniam podrozdział dotyczący uzasadnienia przyjętego poziomu narażenia na toksynę T-2 i ZEN, który pokazuje troskę Autora o zasadność i kompletność prowadzonych badań.
Mimo nielicznych uchybień, uważam, że rozdział ten spełnia swoją funkcję, jest informacyjny, kompletny i odpowiednio wprowadza Czytelnika w meandry poruszanego zagadnienia.

dr hab. Paulina Niedźwiedzka-Rystwej, prof. US
Uniwersytet Szczeciński | Instytut Biologii
Zespół Immunologii Doświadczalnej i Immunobiologii Chorób Zakaźnych i Nowotworowych
ul. Felczaka 3c, 71-412 Szczecin, pok. 113
e-mail: paulina.niedzwiedzka-rystwej@usz.edu.pl
tel.: (+48) 509 572 155
https://immuno.usz.edu.pl/

2. Cel pracy

Za cel pracy Autor postawił ocenę skutków jednoczesnego doustnego podawania niskich stężeń toksyny T-2 i ZEN przez okres 14, 28, i 42 dni na wybrane parametry układu immunologicznego w ścianie jelita biodrowego, takie jak: pomiar stężenia cytokin prozapalnych (IFN-γ, IL-1$\beta, IL-2, IL-12/23p40$), przeciwzapalnych i regulatorowych (IL-4, IL-10 i TGBβ), pomiar odsteka wybranych subpopulacji limfocytów T CD2+, TCD4+, T CD8+, T CD4+CD8+, T$\gamma\delta$, TCR $\alpha\beta$ +, NK oraz B CD5+ (B1) i B CD21+ (B2). Dokonano również wpływu toksyny T-2 i ZEN na odpowiedź komórkową związaną z limfocytami B CD21+ (B2) oraz IL-4. W mojej opinii cel został skonstruowany właściwie, bardzo konkretnie, swoiście i nie budzi zastrzeżeń.

3. Materiał i Metody

Rozdział napisany poprawnie i klasycznie dla tego rodzaju opracowań. Dokładnie opisano dobór zwierząt doświadczalnych i procedury, którym podlegały. W zakresie rozdziału 4.1. nie znalazłam informacji czy badania paszy były wykonywane przez Autora dysertacji, czy zlecane, bardzo proszę o komentarz w tej sprawie. Sugerowałabym także w rozdziale 4.4. zamieścić ryc.12, która znajduje się w wynikach, dokładnie opisując strategię bramkowania – proszę o taką krótką analizę tego zagadnienia w trakcie publicznej obrony.

4. Wyniki

Rozdział ten stanowi obszerne opracowanie opatrzone właściwymi i czytelnymi rycinami dla każdego uzyskanego parametru. Każdy wynik został opisany i skomentowany, w tym samym, czytelnym układzie. Nieliczne błędy edytorskie nie wpływają na pozytywny odbiór tego fragmentu pracy.

UNIWERSYTET SZCZECIŃSKI
INSTYTUT BIOLOGII

dr hab. Paulina Niedźwiedzka-Rystwej, prof. US
Uniwersytet Szczeciński | Instytut Biologii
Zespół Immunologii Doświadczalnej i Immunobiologii Chorób Zakaźnych i Nowotworowych
ul. Felczaka 3c, 71-412 Szczecin, pok. 113
e-mail: paulina.niedzwiedzka-rystwej@usz.edu.pl
tel.: (+48) 509 572 155
https://immuno.usz.edu.pl/

5. Dyskusja

Tę część pracy uważam za najlepszą, najbardziej dojrzałą i ciekawie napisaną. Autor daje dowód znajomości tematu, zgrabnie nawiązując do faktów biologicznych i komentując swoje wyniki w odniesieniu do nich. Bardzo ciekawy do dyskusji jest wynik związany ze zmianą stężeń wydzielanych cytokin w kontekście wpływu mikotoksyn na aktywność GALT. Autor słusznie twierdzi, że prozapalne właściwości niektórych z nich mogą być ważne ze względu na ich potencjalny patologiczny wpływ na badany odcinek jelita biodrowego. Rejestrowany wzrost IFN-γ w badanych próbach sugeruje aktywację odpowiedzi immunologicznej typu I, a co za tym idzie wskazuje na możliwość zwiększonej przepuszczalności nabłonka jelitowego. To ważna obserwacja, warta dalszego zgłębiania. Podobnie zresztą jak zagadnienie potencjalnej polaryzacji makrofagów. Doceniam starania Autora dotyczące skrupulatnego odniesienia się do każdego uzyskanego wyniku, który jest skonfrontowany z dostępną literaturą.

6. Wnioski

Lek. Wet. Wojciech Trybowski wnioski swojej pracy przedstawił w postaci 4 akapitów (sugerowałabym formę wypunktowania), które ściśle i w pełni odpowiadają na postawiony w pracy cel nadrzędny i cele szczegółowe. Są to bardzo trafne, dojrzałe spostrzeżenia, o wysokiej wartości naukowej. Autor konkluduje, że jednoczesna podaż toksyny T-2 i ZEN przez co najmniej 14 dni wpływa modulująco na parametry układu immunologicznej jelita biodrowego świni, a podniesione poziomy stężeń cytokin świadczą o rozwijającym się stanie zapalnym, co może przyczyniać się do wzrostu przepuszczalności ściany jelit i zaburzenia w tworzeniu się tolerancji pokarmowej. Ponadto zaobserwowane zmiany w zakresie odsetka badanych subpopulacji limfocytów B i T świadczą o nasileniu odpowiedzi komórkowej.

Wnioski uważam nie tylko za bardzo poprawnie skonstruowane, ale także świadczące o wysokim poziomie merytorycznym pracy oraz dojrzałości naukowej Autora.

dr hab. Paulina Niedźwiedzka-Rystwej, prof. US
Uniwersytet Szczeciński | Instytut Biologii
Zespół Immunologii Doświadczalnej i Immunobiologii Chorób Zakaźnych i Nowotworowych
ul. Felczaka 3c, 71-412 Szczecin, pok. 113
e-mail: paulina.niedzwiedzka-rystwej@usz.edu.pl
tel.: (+48) 509 572 155
https://immuno.usz.edu.pl/

7. Piśmiennictwo

Składa się z 154 pozycji, w znakomitej większości anglojęzycznych i w zakresie ilości i swoistości jest dobrane poprawnie, a także dobrze zestawione. Już w trakcie czytania pracy odnosi się wrażenie dobrego obycia Autora w literaturze z tego zakresu, co przekłada się na odpowiednie wykorzystanie danych literaturowych w całej pracy. Autor zna i umiejętnie cytuje ważne prace z zakresu swojego przedmiotu badań. Nie mam w tym obrębie żadnych uwag.

II. Ocena końcowa pracy

Praca doktorska lek. wet. Wojciecha Trybowskiego pt.: *„Wpływ jednoczesnego podawania toksyny T-2 i zearalenonu na kształtowanie się odsetka wybranych subpopulacji limfocytów B i T oraz wydzielanie cytokin w ścianie jelita biodrowego świń"* jest dobrym opracowaniem na stopień doktora nauk weterynaryjnych. Założenia i cel pracy są właściwe, ciekawe, wypełniają lukę badawczą i zostały w całości wykonane. Wnioski są trafnie sformułowane, rozwiązują postawiony problem badawczy. Mając na względzie wszystkie walory przedstawionej mi do oceny rozprawy doktorskiej, a w szczególności:

- precyzyjne zweryfikowanie aktualności problemu badawczego i swoistego rodzaju luki, którą badania te wypełniają;
- solidną wiedzę dotyczącą opracowywanego zagadnienia badawczego;
- prawidłowo zaplanowane i wykonane eksperymenty ze swoiście dobraną metodyką;
- poprawne konfrontowanie i argumentowanie, a także interpretację otrzymanych wyników i umiejętne dyskutowanie ich z innymi;
- umiejętność właściwego wyciągania wniosków;

stwierdzam, że rozprawa doktorska lek.wet. Wojciecha Trybowskiego pt.: *„Wpływ jednoczesnego podawania toksyny T-2 i zearalenonu na kształtowanie się odsetka wybranych subpopulacji limfocytów B i T oraz wydzielanie cytokin w ścianie jelita biodrowego świń"* **spełnia** warunki nadania stopnia naukowego doktora w dziedzinie nauk rolniczych w

dr hab. Paulina Niedźwiedzka-Rystwej, prof. US
Uniwersytet Szczeciński | Instytut Biologii
Zespół Immunologii Doświadczalnej i Immunobiologii Chorób Zakaźnych i Nowotworowych
ul. Felczaka 3c, 71-412 Szczecin, pok. 113
e-mail: paulina.niedzwiedzka-rystwej@usz.edu.pl
tel.: (+48) 509 572 155
https://immuno.usz.edu.pl/

dyscyplinie weterynaria, zgodnie z art. 187 ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (t.j. Dz.U. z 2023 r. poz. 742), wnioskuję zatem o dopuszczenie do obrony rozprawy doktorskiej.

UNIWERSYTET SZCZECIŃSKI
Instytut Biologii
dr hab. Paulina Niedźwiedzka -Rystwej
prof. US

dr hab. Paulina Niedźwiedzka-Rystwej, prof. US
Uniwersytet Szczeciński | Instytut Biologii
Zespół Immunologii Doświadczalnej i Immunobiologii Chorób Zakaźnych i Nowotworowych
ul. Felczaka 3c, 71-412 Szczecin, pok. 113
e-mail: paulina.niedzwiedzka-rystwej@usz.edu.pl
tel.: (+48) 509 572 155
https://immuno.usz.edu.pl/