

**Opinia o pracy 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”**

Przedstawiona praca doktorska lek. wet. Wojciecha Trybowskiego to klasyczna monografia posiadająca układ zgodny z wymaganiami stawianymi tego rodzaju opracowaniom: stronę tytułową, streszczenie, spis treści, wstęp, rozdziały merytoryczne, zakończenie i bibliografię. Cele pracy podzielono na główny oraz szczegółowe. Celem głównym jaki przyjął doktorant było określenie, jakie są skutki jednoczesnego doustnego podawania niskich stężeń toksyny T-2 i zearalenonu (ZEN) przez okres 14, 28 i 42 dni na wybrane parametry układu immunologicznego związanego anatomicznie i czynnościowo ze ścianą jelita biodrowego. Wysokość narażenia na toksynę T-2 ustalono na poziomie 14,5 µg/kg mc/dzień, co odpowiadało wartości 50 % dawki LOAEL, natomiast dla ZEN było to 10 µg/kg m.c./dzień, co było równe dawce NOAEL. Doktorant wyróżnił również następujące cele szczegółowe:

- 1) Ocena przebiegu procesu kształtowania się u loszek tolerancji pokarmowej poprzez pomiar stężenia wybranych cytokin prozapalnych (IFN-γ, IL-1β, IL-2, IL-12/23p40) oraz przeciwzapalnych i regulatorowych (IL-4, IL-10, TGFβ).
- 2) Ocena przebiegu procesu kształtowania się u loszek tolerancji pokarmowej poprzez określenie odsetka wybranych subpopulacji limfocytów: T CD2+, T CD4+, T CD8+, T CD4+CD8+, Tγδ, TCR αβ+, NK oraz B CD5+(B1) i B CD21+(B2).
- 3) Ocena wpływu toksyny T-2 i ZEN na odpowiedź komórkową związaną z limfocytami T CD8+ (Tc) i IFN-γ i odpowiedź humoralną/regulatorową związaną z limfocytami B CD21+ (B2) oraz IL-4.

Cele szczegółowe pozwoliły na pełniejsze określenie problemów badawczych związanych z przedstawionymi badaniami. Temat pracy jest powiązany z wpływem mykotoksyn na czynności jelita biodrowego. Mykotoksyny to substancje powstałe jako wynik syntezy metabolizmu wtórnego w grzybach pleśniowych, workowców (*Ascomycota*) z rodzaju *Penicillium*, *Aspergillus*, *Fusarium*, *Stachybotrys*. Generalnie nie mają znaczenia dla metabolizmu wymienionych pleśni, jednak wytwarzanie ich zmniejsza konkurencję z innymi organizmami w środowisku. Często mają właściwości antybiotyczne jednak wykazują różny poziom toksyczności dla konsumentów, czyli zwierząt. W przypadku mykotoksyn badanych w/w pracy, czyli toksyny T-2 oraz zearalenonu, są one produkowane przez różne gatunki workowców z rodzaju *Fusarium*. Działanie toksyny T-2 polega na blokowaniu syntezy białka przez rybosomy, stąd określa się ją jako rybosomotoksynę. W organizmie zwierząt działa zależnie od dawki. W dużych stężeniach powoduje toksyczną aleukie polegającą obniżeniu

liczby leukocytów. Tym samym zmniejsza się odpowiedź immunologiczna. Również na komórki nabłonkowe działa cytotoksycznie. Niskie dawki toksyny T-2 działają inaczej. Ze względu na występowanie mykotoksyn w paszach, oddziałują one przede wszystkim na nabłonek jelitowy, powodując spadek funkcji barierowych. Stąd pojawiają się procesy zapalne i wydzielane są cytokiny IL-1 β , IL-6, IL-8, aktywowane makrofagi m.in. pod wpływem LPS wydzielają IL-12/ 23, a także cytokiny limfocytów Th1 (IFN- γ), czy Th17 (IL-17).

W przypadku zearalenonu obserwowane są zjawiska podobne – również ma miejsce podwyższona aktywność immunologiczna w jelicie, co jest związane z wydzielaniem cytokin takich, jak m. in. IL-12, IL-1 β , czy IL-6. Ekspozycja na zearalenon wywołuje reakcje nekrozy i apoptozy w komórkach nabłonkowych jelita, jak również w limfocytach T i B. Ze względu na fakt, że zearalenon ma działanie estrogenne, podobnie jak estradiol, zaliczany jest do ksenoestrogenów. Tym samym może być ligandem dla receptorów estrogenowych ER- α i ER- β . Jest to związane z strukturą i konformacją przestrzenną cząsteczki. Podobnie jak związek macierzysty działają również jego metabolity.

W powyższej pracy doktorant badał wpływ jednoczesnej ekspozycji zearalenonu oraz toksyny T-2 na jelito biodrowe świń, co nie jest prostą sumą działania osobnego tych mykotoksyn. Doktorant zauważył, że w literaturze jest dużo informacji na temat działania wysokich dawek tych związków. Tym samym istnieje deficyt informacji na temat oddziaływania na zwierzęta niskich dawek mykotoksyn, często uważanych za bezpieczne. Jednak doktorant, jako praktykujący lekarz weterynarii obserwował problemy związane ze skarmianiem zwierząt paszą z niskimi dawkami mykotoksyn. Stąd tematem pracy doktorskiej jest badanie takich dawek na układ pokarmowy świni.

W celu wykonania powyższych badań przeprowadzonych przez lek. wet. Wojciecha Trybowskiego pobierano było jelito biodrowe świń pochodzące z realizowanego w Katedrze Prewencji i Higieny Pasz Wydziału Medycyny Weterynaryjnej UWM projektu finansowanego przez Narodowe Centrum Nauki nr N N308 237936 pt. „Badania nad oddziaływaniem toksyny T-2 i zearalenonu na wybrane wskaźniki odpowiedzi immunologicznej jelita świni.” W uzyskanym materiale tkankowym doktorant analizował odsetek komórek układu immunologicznego: limfocytów Tc (CD8+) a także limfocytów B. Powiązane to zostało z poziomem cytokin – IFN- γ oraz IL-4. Tym samym doktorant analizował odpowiedź immunologiczną komórkową z odpowiedzią uznawaną za humoralną. Uzyskane przez doktoranta wyniki są ważną informacją określającą wpływ dawki toksyny T-2 14,5 μ g/kg mc/dzień oraz ZEN w dawce 10 μ g/kg m.c./dzień podawanym przez 14 dni, jako powodującą niekorzystne zmiany o cechach stanu zapalnego w jelicie biodrowym loszek. Stan zapalny jest procesem wieloczynnikowym, którego poszczególne etapy odbywają się na poziomie organizmu narządu, tkanki, a także na poziomie komórkowym i metabolicznym. Mimo, że w powyższej pracy doktorskiej ogół dostarczonych informacji na temat oddziaływania toksyny T-2 oraz zearalenonu na jelito biodrowe świni jest ograniczony, to stanowi istotny element w postaci informacji naukowej, która może być podstawą do dalszych działań i wniosków. W kontekście zwierząt może mieć znaczenie aplikacyjne, dotyczące konkretnych dawek mykotoksyn oraz ich obniżenia jeśli chodzi o normy. Jednocześnie może być także powiązane z epidemiologią chorób zapalnych jelit u zwierząt, ale także u człowieka.

Praca doktorska lek. wet. Wojciecha Trybowskiego zawiera prawidłowo zastosowane i opisane metody badawcze, opracowania statystyczne. Jednocześnie uzyskane wyniki zostały

zinterpretowane prawidłowo, a uzyskane wnioski dają podstawy że doktorant wykonał ogromną pracę analityczną oraz poznawczą.

Lek. wet. Wojciech Trybowski wykonując wymienione wykazał się samodzielnością, umiejętnościami i dociekliwością badawczą. Analizując metodyki badawcze można zauważyć umiejętności trafnego ich wyborów oraz dobrego planowania całego procesu. Trzeba również wziąć pod uwagę, że doktorant nie jest pracownikiem naukowym, co pokazuje samodzielność i profesjonalizm badawczy.

Tym samym należy stwierdzić, 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 wymogi Ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. Nr 65, poz. 595 z dnia 16.04.2004 r. z późn. zm.) oraz Rozporządzenia Ministra Nauki i Szkolnictwa Wyższego z dnia 22 września 2011 r. w sprawie szczegółowego trybu i warunków przeprowadzania czynności w przewodach doktorskich, w postępowaniu habilitacyjnym oraz w postępowaniu o nadanie tytułu profesora (Dz. U. Nr 204, poz. 1200).

dr wet. inż. Paweł Wojtacha