

RECENZJA

Rozprawy doktorskiej lek. wet. Ismeny Gałęckiej, wykonanej w Katedrze Anatomii
Fizjologii Klinicznej, Wydziału Medycyny Weterynaryjnej, UWM w Olsztynie

Tytuł pracy: *„Ocena wpływu niskiej i wysokiej dawki mikroplastiku na kodowanie chemiczne jelitowego układu nerwowego i układ immunologiczny jelita cienkiego świni domowej”*

Promotor: *Prof. dr hab. Jarosław Calka*

Podstawę formalną recenzji stanowi pismo Przewodniczącego Rady Naukowej Dyscyplina Weterynaria, UWM w Olsztynie z dnia 13 lutego 2025 roku, w sprawie powołania recenzentów rozprawy doktorskiej lek. wet. Ismeny Gałęckiej.

W przedłożonej do oceny pracy doktorskiej, lek. wet. Ismena Gałęcka podjęła się próby określenia w jaki sposób podawanie mikroplastiku w warunkach eksperymentalnych wpływa na funkcjonowanie układu nerwowego jelitowego jelita cienkiego świń. Próby takiej oceny Doktorantka postanowiła dokonać poprzez szacunkowe oznaczenie kilku związków biologicznie aktywnych, o których wiadomo że pełnią w ENS rolę neurotransmiterów lub/i neuromodulatorów. Dodatkowym aspektem rozprawy jest próba ilościowego oszacowania poziomu cytokin stanu zapalnego. Temat wpływu mikroplastiku na funkcjonowanie układów i poszczególnych narządów człowieka i zwierząt nie jest nowy, a nawet (biorąc pod uwagę kontekst publikacyjny) można by powiedzieć, że jest mocno ostatnio eksplorowany. Jednak w dobie powszechnego skażenia czy zanieczyszczenia żywności mikroplastikiem można uznać, że badania Doktorantki wnoszą pewne *novum* do obecnego stanu wiedzy. Biorąc pod uwagę zdrowie zwierząt, oraz co ważne z punktu widzenia weterynaryjnego, także zdrowie ostatecznego konsumenta mięsa można uznać, że tematyka naukowa, której podjęła się Doktorantka zawiera się całościowo w dyscyplinie naukowej weterynaria.



Ocena formalna

Przedmiotem rozprawy doktorskiej są tematycznie powiązane trzy artykuły naukowe opublikowane w międzynarodowych, recenzowanych czasopismach naukowych z listy *Journal Citation Report* (JCR), a więc czasopism posiadających *Impact Factor*; IF. Sumaryczny IF dla cyklu recenzowanych prac wynosi 16,9, co uznaję za wynik bardzo dobry. Nie będę się wypowiadał na temat punktacji stosowanej przez MNiSW, bowiem nie zawsze ona odzwierciedla poziom naukowy czasopism. Dwie z prac zostały opublikowane w czasopismach MDPI jednak na korzyść tych periodyków przemawia ich wysoki IF. Reasumując, wskaźniki bibliometryczne wszystkich prac są zadowalające i w zupełności wystarczają aby uznać te publikacje za podstawę do uzyskania stopnia doktora. Do rozprawy dołączono stosowne oświadczenia współautorów precyzyjnie określające zakres wykonanych przez nich badań. Z oświadczeń tych wynika, że udział Doktorantki w powstanie 3 prac jest wysoki (około 80%). Dodatkowo w skład przedłożonego opracowania wchodzi streszczenie w języku polskim i angielskim, spis treści oraz krótkie omówienie badań.

Recenzowana praca doktorska podlega regulacjom Ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym. (Dz.U. 2024 poz. 1571 z późn. zm.). Zatem zgodnie z Art. 187. 2. tejże Ustawy „Przedmiotem rozprawy doktorskiej jest **oryginalne rozwiązanie problemu naukowego**, oryginalne rozwiązanie w zakresie zastosowania wyników własnych badań naukowych w sferze gospodarczej lub społecznej albo oryginalne dokonanie artystyczne.” Niestety, w dołączonym autoreferacie oraz samych pracach na próżno szukać opisu czego dotyczył problem naukowy, co utrudnia stwierdzenie czy został on rozwiązany. Uważam, że kwestia ta powinna zostać doprecyzowana przez Doktorantkę w trakcie publicznej obrony.

Ocena merytoryczna

Wszystkie trzy publikacje stanowiące podstawę pracy doktorskiej zostały przygotowane zgodnie z obowiązującym dla tego typu prac standardem. Tak więc po krótkim wprowadzeniu czytelnik zapoznaje się z metodyką, uzyskanymi wynikami i ostatecznie ich interpretacją w formie dyskusji. Metodycznie praca uwzględnia kilka etapów. Po pierwsze Autorka, co jest bardzo słusznym krokiem, scharakteryzowała przy użyciu techniki dynamicznego rozproszenia światła podawany zwierzętom mikroplastik, tak aby ocenić jego jednorodność. Konsekwentnie do oceny powierzchni i kształtu wykorzystwała analizę z wykorzystaniem mikroskopu skaningowego. Do właściwej analizy immunoekspresji badanych związków biologicznie czynnych Autorka wykorzystwała technikę immunofluorescencyjnego znakowania neuronów obecnych w poszczególnych zwojach. To znana od lat i stosowana metoda badawcza, ale jedynie o charakterze jakościowym. Recenzując tę pracę czuję niedosyt bowiem naturalną konsekwencją badań



jakościowych powinny być badania ilościowe (WB, ELISA czy nawet RT-PCR), których niestety nie ma w bieżących artykułach. Należy domniemać, że Doktorantka w kolejnym etapie swojej ścieżki naukowej postanowi nadrobić te zaległości i zweryfikuje uzyskane przez siebie wyniki także w sposób ilościowy. Z drugiej zaś strony badania poziomu stężenia cytokin prozapalnych są jedynie o charakterze ilościowym (test ELISA). Aż prosi się zatem o immunohistochemiczne oznaczenie rozmieszczenia badanych związków w sposób jakościowy stosując powszechnie dostępne zestawy przeciwciał pierwotnych. Konkludując, nie do końca zatem rozumiem logikę oraz uzasadnienie doboru przez Doktorantkę metod badawczych służących do realizacji postawionych sobie celów. Biorąc pod uwagę wskazane ograniczenia należy stwierdzić, że uzyskane wyniki są jednak w sensowny sposób umiejscowione w kontekście odkryć innych badaczy, także na tle badań eksperymentalnych z wykorzystaniem cząstek plastiku. Warto zauważyć, że Doktorantka sformułowała 7 celów pracy ale w odpowiedzi na te cele przedstawiła 6 (dość logicznie sformułowanych) wniosków, co stanowi pewien dysonans. Brakuje także końcowej informacji na temat weryfikacji hipotezy.

Uwagi krytyczne:

1. Tytuł rozprawy powinien być przejrzysty i czytelny. Tymczasem dostrzegam w nim aż trzy niezręczności o charakterze anatomicznym. Po pierwsze termin „kod chemiczny” czy też szerzej „kodowanie chemiczne” odnosi się do konkretnych komórek. Tym samym to nie układ nerwowy jelitowy jest chemicznie kodowany tylko neurony ENS (składające się z ciała neuronu i wypustek nerwowych). Po drugie, zgodnie z ogólnymi zasadami układy zbudowane są z narządów, ewentualnie wspieranych układem naczyń. Termin „układ immunologiczny jelita cienkiego” sugeruje, że jelito to jest narządem układu immunologicznego, co oczywiście wymaga sprostowania (na np. elementy układu immunologicznego w jelicie cienkim). Po trzecie, po lekturze pracy okazuje się, że Autorka w zasadzie w ogólnie nie badała narządów układu immunologicznego, a jedynie oceniała poziom cytokin, które są mediatorami odpowiedzi immunologicznej. Stąd też bardziej właściwym terminem byłoby określenie „status odpowiedzi immunologicznej jelita cienkiego”.
2. Strona 4 (i pozostałe) – w anatomii zwierząt nie używa się terminu „jelito kręte”. Zamiast tego stosuje się termin „jelito biodrowe”.
3. Strona 4 i pozostałe - termin „splot mięśniowy” jest pewnym uproszczeniem bowiem prawidłowo powinien brzmieć on jako „splot warstwy mięśniowej”. Mam także uwagę, co do zasadności użycia tego terminu w publikacjach, bowiem zgodnie z wiedzą anatomiczną neurony ENS zlokalizowane są w zwojach (a nie splotach), a dopiero zwoje rozsiane są na terenie splotu. Tak więc bardziej



adekwatnym terminem byłoby określenie „zwoje warstwy mięśniowej”. Niestety jak zauważyłem, we wszystkich 3 pracach Autorzy utożsamiają sploty ze korespondującymi zwojami co moim zdaniem jest interpretacyjną nieścisłością.

4. Hipoteza badawcza odnosi się do jelita biodrowego, podczas gdy badaniom poddano całość jelita cienkiego świni domowej. Co więcej autorka wskazuje cele szczegółowe ale nie definiuje precyzyjnie celu głównego rozprawy (który przecież odpowiada na problem naukowy). Same cele szczegółowe też nie do końca są prawidłowo zdefiniowane bowiem dane dotyczące odsetka poszczególnych populacji neuronalnych w ENS zdrowych świń czy też poziomu u nich wybranych cytokin zostały już dawno opublikowane i z łatwością można znaleźć je w innych publikacjach (wobec czego nie powinny te badania być celem samym w sobie a jedynie etapem do osiągnięcia innych celów).
5. Doktorantka w swojej pracy postanawia wprowadzić termin „niska dawka” i „wysoka dawka”. Jednak nie znalazłem w opracowaniu czytelnego wyjaśnienia co Autorka uznaje, że jest i na jakiej podstawie „niską dawka” a kiedy dawka wg. Autorki staje się już „wysoką”. Wymaga to drobiazgowego uzasadnienia i podparcia stosowną literaturą naukową.
6. Kolejną kwestią związaną z podawaniem PET jest wyjaśnienie jakie działania Doktorantka podjęła aby udowodnić, że podawany plastik rzeczywiście osadził się w ścianie przewodu pokarmowego zwierząt eksperymentalnych? W alternatywnej wersji, podawany mikroplastik mógł jedynie podrażnić błonę śluzową przewodu pokarmowego (wywołując np. stan zapalny) ale się w niej nie akumulować.
7. Na jakiej bazie dokonano doboru do badań neurotransmiterów/neuromodulatorów. Wiadomo, że w ENS znajduje się ponad 30 tego typu różnorodnych związków. Stąd konieczne jest wyjaśnienie dlaczego akurat Doktorantka wybrała te a nie inne substancje.
8. Proszę o wyjaśnienie co Doktorantka rozumie pod terminem „*reactive neurons*”; patrz Tytuł publikacji opublikowanej w Nutriens 2024. Czy istnieją w ogóle jakieś neurony które są niereaktywne?

Konkluzja

Wspominane przeze mnie niedociągnięcia czy uwagi krytyczne mogą z łatwością zostać wyjaśnione przez Doktorantkę w takcie publicznej obrony i nie rzutują na samą wartość naukową pracy doktorskiej. W konkluzji stwierdzam, że oceniana rozprawa doktorska odpowiada warunkom określonym w art. 187 ustawy z 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym. (Dz.U. 2024 poz. 1571 z późn. zm.).



