

L dz. ZKE 72/II/22

Lublin, 22.06.2022

Dr hab. inż. Małgorzata Goleman
Katedra Etologii Zwierząt i Łowiectwa
Wydział Nauk o Zwierzętach i Biogospodarki
Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie
email: malgorzata.goleman@up.lublin.pl

Ocena pracy doktorskiej lek.wet. Sebastiana Słodkiego
pt. Wpływ procesu starzenia na mikrostrukturę wybranych mięśni szkieletowych
psów
wykonanej w Katedrze Fizjologii Zwierząt i Zoofizjoterapii, Wydziału Hodowli
i Biologii Zwierząt Politechniki Bydgoskiej im. J.J. Śniadeckich
pod kierunkiem dr hab. inż. Joanny Boguckiej, prof. PBŚ

Podstawą do wydania opinii jest pismo dr hab. inż. Katarzyny Stadnickiej, prof. PBŚ – przewodniczącej Rady Naukowej Dyscypliny Zootechnika i Rybactwo Politechniki Bydgoskiej z dnia 25.04.2022 r. (WHIBZ/520/2022) oraz przysłana rozprawa doktorska w formie klasycznej.

Rozprawa doktorska napisana jest w formie jednolitej monografii. Jest pracą na pograniczu dyscypliny zootechnika i weterynaria, dotyczy ważnej dla każdego hodowcy i właściciela psa tematyki starzenia się organizmu. Każdy organizm ulega procesom starzenia. Badania dotycząc tego procesu u psów są istotne dla ich właścicieli, zwłaszcza w obecnej dobie szybkiego rozwoju sportów kynologicznych i znaczenia aktywności psa dla zaspokojenia jego potrzeb gatunkowych. Coraz więcej psów startuje w zawodach i ma przeprowadzane regularne treningi. Dlatego też proces starzenia się mięśni ma ogromne znaczenie w doborze aktywności dla psa i obciążenia go pracą w trakcie treningów.

Całość przedłożonej do recenzji rozprawy doktorskiej przedstawiono na 116 stronach. Dysertacja składa się z 6 głównych rozdziałów dotyczących podjętej tematyki badawczej, z których 5 ma rozbudowane podrozdziały: 1. Wstęp (str. 11-12), 2. Hipoteza badawcza i cele pracy, z wyodrębnionym podrozdziałem 2.1 Cel pracy (str. 13); 3. Przegląd piśmiennictwa zawierający 9 podrozdziałów (str. 14-40); 4. Materiał i metody podzielony na 5 podrozdziałów a dwa z nich na 4 podrozdziały częściowe (str. 41-49); 5. Wyniki i dyskusja z podziałem na 3 podrozdziały (str. 50-91); 6. Podsumowanie i wnioski (str. 92-94). Rozdział 7 to Literatura zawierający 247 pozycji piśmiennictwa (str. 95-109); 8. Streszczenie (str. 110-113) i 9. Abstract (str. 114-116).

Rozdział „Wstęp” zawiera wprowadzenie w tematykę badań Autora. Dzięki prężnemu rozwojowi medycyny weterynaryjnej zwiększa się długość życia psów, jednak wraz z upływem lat u zwierząt dochodzi do szeregu zmian narządowych, w tym w układzie mięśniowym. Jednym z kluczowych elementów dobrostanu psa jest prawidłowa motoryka ruchowa i możliwość poruszania się. Z tego też powodu znajomość procesu starzenia się mięśni jest bardzo ważna z punktu widzenia poprawy komfortu życia psa starego. Autor zwraca uwagę na dynamiczny rozwój zoofizjoterapii jako efekt rosnącej na rynku potrzeby świadczenia tego typu usług. Opracowanie indywidualnych programów opieki fizjoterapeutycznej pozwala na skuteczne spowolnienie procesów starzenia, zwłaszcza w układzie mięśniowym ale też w kostnym i nerwowym. Według Doktoranta znajomość mikrostruktury mięśni szkieletowych i różnicy w ich budowie zależnie od wieku pozwoli na efektywniejsze prowadzenie i dobór terapii oraz pomoże poznać przyczyny oraz określić metody opóźniające wystąpienie związanych z wiekiem zmian starczych w mięśniach u psów.

W rozdziale drugim Doktorant postawił hipotezę badawczą: procesy starzenia u psów prowadzą do zmian w mikrostrukturze mięśni oraz wpływają na zdolność mięśni do regeneracji.

Określony został cel pracy: Ocena wpływu procesów starzenia na cechy mikrostruktury mięśnia dwugłowego ramienia (*m. biceps brachii* – BB) i czworogłowego uda (*m. quadriceps femoris* – QF) psów,

oraz cele szczegółowe:

1. Ocena mikrostruktury mięśni: dwugłowego ramienia (*m. biceps brachii*) i czworogłowego uda (*m. quadriceps femoris*), w tym profilu fizjologiczno-biochemicznego włókien mięśniowych oraz zmian histopatologicznych w trakcie starzenia się psów.
2. Ocena wpływu procesów starzenia na kapilaryzację (mikrounaczynienie) mięśni oraz zdolność do regeneracji włókien mięśniowych na podstawie określenia liczby komórek satelitarnych u psów.
3. Określenie współzależności między poszczególnymi cechami mikrostruktury mięśni oraz parametrami biochemicznymi i hematologicznymi krwi.
4. Pozyskanie nowej wiedzy na temat procesów starzenia mięśni szkieletowych psa, a tym samym stworzenie podstawy do dalszych badań w tym kierunku. Umożliwi to wypracowanie skutecznych metod opóźniających degenerację starzejących się mięśni, między innymi poprzez postępowanie fizjoterapeutyczne, co znacząco poprawi dobrostan i pomoże w profilaktyce psów geriatrycznych.

Rozdział „Przegląd piśmiennictwa” zawiera 9 podrozdziałów opisanych na 27 stronach. Autor wyjaśnia pojęcia takie jak geriatria i gerontologia w odniesieniu do

psów oraz kwalifikuje psy pod względem masy ciała (mały pies, średni pies, duży pies, wielki pies) do wieku geriatrycznego (tab. 1). W języku kynologicznym używa się określenia „olbrzymi” a nie „wielki” pies i takie nazewnictwo powinno być zachowane. W drugim podrozdziale opisana jest dysfunkcja mitochondrialna jako determinanta poziomu aktywności fizycznej i starzenia się mięśni. Autor podsumowuje to zagadnienie stwierdzeniem, że spadek funkcji i wydolności mitochondriów ma kluczowe znaczenie w procesach degeneracji komórek mięśniowych i spadku masy mięśniowej wraz z upływem wieku. Kolejny podrozdział podejmuje zagadnienie zmiany aktywności enzymatycznej i zdolności wymiany białek w procesie starzenia się mięśni. Autor zaznacza, że mięśnie szkieletowe różnią się pod względem morfologicznym, biochemicznym i czynnościowym, dzieląc włókna na 3 rodzaje typów, z których każdy ulega w innym stopniu zmianom wynikającym z wieku (tempo i charakter skurczu). Proces starzenia wpływa na wydolność metaboliczną tkanki mięśniowej i zmiany (spadek) aktywności poszczególnych enzymów. Wraz z wiekiem następuje również stopniowa utrata białek mięśniowych. Podrozdział 4 mówi o zaburzeniach regulacji gospodarki jonowej w starzejących się mięśniach. Autor podsumowując ten fragment Przeglądu piśmiennictwa stwierdza, że upośledzenie funkcji siateczki sarkoplazmatycznej oraz zaburzenia transportu i poziomu poszczególnych jonów w komórkach, a szczególnie homeostazy wapniowej, ma duże znaczenie w upośledzeniu kurczliwości starzejących się mięśni. Następny podrozdział opisuje wpływ stresu oksydacyjnego i wolnych rodników na starzejące się mięśnie i zakończony jest stwierdzeniem autora, że niemal pewne jest, iż oksydacyjne uszkodzenie mięśni jest znaczącym procesem odpowiedzialnym za starzenie się tkanki mięśniowej, choć w mniejszym wymiarze, niż to wcześniej zakładano a

mechanizm tych zmian jest zdecydowanie bardziej złożony i wymaga dalszych badań. Podrozdział 6 opisuje zagadnienie mikrostruktury mięśni szkieletowych. Autor dokonując przeglądu piśmiennictwa zaznacza, że jest niewiele informacji na temat włókien olbrzymich w mięśniach szkieletowych u psów i ich roli. Następnie opisana została rola komórek satelitarnych w procesach miogenezy i starzenia mięśni oraz wpływ procesów angiogenezy na starzenie się mięśni. Przegląd piśmiennictwa zakończony został podrozdziałem 9 opisującym czynniki środowiskowe wpływające na procesy starzenia się mięśni.

Bardzo dobra znajomość literatury, dobór przytoczonych informacji i umiejętność syntetycznego przekazania zdobytej wiedzy świadczy o dobrej znajomości tematyki badawczej i przygotowaniu Doktoranta do podjęcia niniejszych badań. Doktorant podsumowując każdy z podrozdziałów Przeglądu piśmiennictwa ostrożnie wnioskuje wskazując luki w tematyce dotyczącej psów. Cały rozdział jest bardzo szczegółowy, opisuje nie tylko elementy budowy anatomicznej mięśni ale też procesy zachodzące w mięśniach w trakcie procesu starzenia się.

Rozdział „Materiał i metody” podzielony został na 5 podrozdziałów. Materiał do badań stanowiły 33 psy w wieku od 8 tygodni do 18 lat, z których utworzono 4 grupy wiekowe. **Jest to bardzo rozległy przedział wiekowy. Zważywszy, że mięśnie u psa rozbudowują się i osiągają pełną sprawność około drugiego roku życia (zależy to od wielkości psa a tym samym szybkości procesu wzrostu) dyskusyjne jest wykorzystanie w badaniach zwierząt poniżej 12 miesiąca życia. Proszę o uzasadnienie włączenia do badań zwierząt od 8 tygodnia do 6 miesiąca życia.**

Psy użyte w badaniach zmarły w sposób naturalny, z powodu choroby lub poddane zostały eutanazji ze wskazań medycznych w zakładzie leczniczym dla zwierząt. W tabeli 2 zestawiono dane o psach z przypisaniem do grupy wiekowej i określeniem rasy, płci, wieku i diagnozy weterynaryjnej (powodu śmierci lub eutanazji). **Zabrakło mi w podziale na grupy uwzględnienia statusu płciowego (kastrowanie/sterylizacja) zwierząt wykorzystanych w badaniach, gdyż te czynniki wpływają znacząco na rozwój masy mięśniowej.**

Jako materiał do badań pobrane zostały pośmiertnie wycinki z dwóch mięśni: mięśnia dwugłowego ramienia (*m. biceps brachii*) kończyny piersiowej i czworogłowego uda (*m. quadriceps femoris*) kończyny miednicznej. Przeprowadzono również badanie krwi mające pozwolić na precyzyjne określenie stanu zdrowia badanych psów i jego wpływu na wyniki badań mięśni. Krew pobierana była od zwierząt w celach diagnostycznych w trakcie ich leczenia oraz podczas procedury eutanazji. **Podczas procedury eutanazji nie jest standardem pobieranie krwi a tym bardziej wycinka mięśni. Czy w związku z tym była zgoda właściciela na pobranie krwi oraz próbek mięśni z ciała psa i w jakiej formie o tą zgodę pytano? Zważywszy różny czas leczenia (od 4 h do 2 lat), czy czas podawania leków nie zmieniał parametrów krwi i mięśni? Czy można to odnieść do zwierząt zdrowych?**

W przygotowaniu preparatów histopatologicznych opisano techniki histochemiczne oraz immunohistochemiczne oraz opisana została komputerowa analiza obrazu mikroskopowego do przygotowanych preparatów. Uzyskane wyniki poddano analizie statystycznej wykorzystując pakiet Statistica 13.3 oraz program Microsoft Office Excel.

Rozdział „Wyniki” został połączony z dyskusją. Autor bezpośrednio zestawia uzyskane wyniki z pracami innych autorów. Rozdział podzielono na 3 podrozdziały: Cechy mikrostruktury badanych mięśni; Wskaźniki morfologiczne i biochemiczne krwi; Współzależności, współczynniki korelacji i determinacji. Wyniki zostały zestawione w 17 tabelach i na 4 wykresach. Na uwagę zasługuje rzetelna dokumentacja fotograficzna obrazów mikroskopowych badanych mięśni (14 fotografii).

Rozprawa zakończona została podsumowaniem, które w pewien sposób powtarza treść zawartą we wstępie oraz 7 dobrze sformułowanymi wnioskami wyczerpującymi podjętą tematykę badawczą. **Autor nie udzielił jednoznacznej odpowiedzi czy postawiona hipoteza badawcza została potwierdzona czy odrzucona.** Co prawda jest o tym mowa w treści podsumowania ale uważam, że powinno to być wyraźnie wyodrębnione w tekście. Bardzo ważne jest stwierdzenie w podsumowaniu, że dalsze badania biomechanizmu starzenia się mięśni na poziomie komórkowym z wykorzystaniem nowoczesnych metod badawczych, w tym genetycznych, mogą pozwolić w przyszłości wprowadzić nowe, jeszcze skuteczniejsze metody opóźniające zmiany degeneracyjne w tkance mięśniowej starzejących się psów. ~~W związku z tym proszę doktora o odpowiedź: jak~~

uzyskanych wyników z badaniami mięśni psów pracujących, ale rozumiem, że dostępność materiału jest tu poważnym ograniczeniem.

Reasumując należy stwierdzić, że przedstawiona do recenzji rozprawa mieści się w dziedzinie nauk rolniczych, dyscyplinie zootechnika i rybactwo, i w tym zakresie dokumentuje kompetencje naukowe lek. wet Sebastiana Słodkiego. Praca ma również charakter aplikacyjny.

Przedstawiona monografia jest oryginalnym opracowaniem. Badania zostały wykonane z użyciem nowoczesnych metod i technik badawczych, metodycznie i poprawnie. Opis badań został przygotowany bardzo starannie. Doktorant przy wykonywaniu analiz i opracowywaniu wyników wykazał się odpowiednią wiedzą merytoryczną oraz umiejętnością samodzielnego ich planowania i prowadzenia.

Edytorsko dysertacja przygotowana jest starannie, napisana jest przejrzystym językiem, nie ma błędów literowych i interpunkcyjnych.

W świetle powyższych stwierdzam, że praca lek. wet. Sebastiana Słodkiego pt. „Wpływ procesu starzenia na mikrostrukturę wybranych mięśni szkieletowych psów” spełnia wymogi określone w Ustawie z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz.U. z 2017 r. poz. 1789 ze zm.), w zw. z art. 179 ust. 1 Ustawy z dnia 3 lipca 2018 r. - przepisy wprowadzające ustawę Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz.U. z 2019 r. poz. 534) i może być podstawą do nadania stopnia naukowego doktora w dziedzinie nauk rolniczych w dyscyplinie zootechnika i rybactwo. Wnoszę, zatem do Wysokiej Rady Dyscypliny Zootechnika i Rybactwo Politechniki Bydgoskiej im. J.J. Śniadeckich o dopuszczenie lek. wet Sebastiana Słodkiego do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

