

Olsztyn, 14.05.2025

Recenzja

rozprawy doktorskiej mgr Barbary Kruszyńskiej zatytułowanej: „Analiza mikrostrukturalna brodawek smakowych u wybranych gatunków przeżuwaczy (*Ruminantia*), zajęczaków (*Lagomorpha*) i zwierząt drapieżnych (*Carnivora*)”

Podstawowe dane o Kandydatce

Pani mgr Barbara Kruszyńska uzyskała tytuł magistra biologii w 2018 roku. Praca magisterska pt. „Mikrostruktura brodawek smakowych żubra, bydła i żubronia w badaniach z wykorzystaniem mikroskopii świetlnej (LM) i skaningowej mikroskopii elektronowej (SEM)” została wykonana w Zakładzie Histologii i Embriologii Zwierząt na Wydziale Medycyny Weterynaryjnej i Nauk o Zwierzętach Uniwersytetu Przyrodniczego w Poznaniu.

Kandydatka nie ubiegała się uprzednio o nadanie stopnia doktora w innym postępowaniu. Przebieg pracy naukowo-zawodowej mgr Barbary Kruszyńskiej:

01.03.2024 - 28.02.2025 - zatrudnienie na stanowisku asystenta naukowo-dydaktycznego w wymiarze ½ etatu w Pracowni Histologii i Embriologii Zwierząt, w Katedrze Fizjologii Biochemii i Biostruktury Zwierząt, Uniwersytetu Przyrodniczego w Poznaniu.

29.11.2023 - umowa zlecenie na prowadzenie zajęć dydaktycznych w semestrze zimowym roku akademickiego 2023/2024 w Pracowni Histologii i Embriologii Zwierząt.

2.03.2022 - 28.02.2023 - zatrudnienie na stanowisku technika w wymiarze ¼ etatu w Pracowni Histologii i Embriologii Zwierząt, w Katedrze Fizjologii Biochemii i Biostruktury Zwierząt, Uniwersytetu Przyrodniczego w Poznaniu.

02.12.2022 - 30.11.2023 - przebywanie na urlopie macierzyńskim przedłużonym o okres urlopu rodzicielskiego.

28.02.2022 - umowa zlecenie na prowadzenie zajęć dydaktycznych w semestrze letnim roku akademickiego 2021/2022 w Pracowni Histologii i Embriologii Zwierząt

01.03.2021 - umowa zlecenie na prowadzenie zajęć dydaktycznych w semestrze letnim roku akademickiego 2020/2021 w Pracowni Histologii i Embriologii Zwierząt.

Ocena formalna i merytoryczna

Język jest narządem, zwłaszcza u ssaków, stosunkowo dużym, o skomplikowanej budowie, i w związku z tym, dokładne zrozumienie jego biologicznego znaczenia wciąż wymaga dalszych, intensywnych badań. O kluczowym znaczeniu tego narządu dla prawidłowego działania całego układu trawiennego może świadczyć np. kwestia złożoności organizacji morfo-funkcjonalnej jego unerwienia, bowiem, u ssaków, posiada on, oprócz „zewnętrznego” unerwienia ruchowego somatycznego oraz czuciowego, także własny, śródścienny autonomiczny układ nerwowy (ang. lingual enteric nervous system; LENS) zawierający m.in. relatywnie liczne śródścienne zwoje nerwowe, będący niejako przedłużeniem na obszar głowy śródściennego (tzw. enterycznego) układu nerwowego przelyku, żołądka i jelit. Uważa się, że LENS może być czymś w rodzaju „chemicznego oka” umiejscowionego na początku układu trawiennego, które analizuje pokarmy przed ich spożyciem i przekazuje tę informację, poprzez dalsze nerwowe struktury śródścienne w kierunku bardziej dystalnym. Z kolei wstępna ocena chemiczna przyjmowanego pokarmu odbywa się w wyspecjalizowanych brodawkach smakowych, które wykazują duże zróżnicowanie zarówno wewnątrz- jak i międzygatunkowe, tak pod względem ich rozmieszczenia jak i morfologii, a co za tym idzie, także funkcji. Analiza dotychczas zgromadzonych danych sugeruje, że powinny być one traktowane nie tylko jako struktury posiadające właściwości chemorecepcyjne, lecz jako wielomodułowe struktury czuciowe, które, podobnie jak np. polimodalne nocyceptory umiejscowione na powierzchni skóry, reagują na wszystkie rodzaje bodźców: chemiczne, dotykowe oraz termiczne. Jeśli chodzi o stan wiedzy dotyczący takiego, szerszego rozumienia zasad funkcjonowania brodawek smakowych, to wykazuje on wciąż szereg luk i niejasności, m.in. w aspekcie ich budowy mikrostrukturalnej. Niniejsza rozprawa doktorska dotyczy właśnie analizy mikrostrukturalnej brodawek smakowych u wybranych gatunków przeżuwaczy (bydło, żubr europejski i żubroń), zajączaków (królik europejski i domowy) i zwierząt drapieżnych (pies i kot domowy). Przeprowadzono wszechstronne badania w zakresie mikroskopii świetlnej oraz skaningowej mikroskopii elektronowej, w tym zastosowano metodę maceracji chemicznej do wizualizacji trzonów łącznotkankowych brodawek. Również, co należy podkreślić, po raz pierwszy u ssaków, zastosowano komputerową metodę tworzenia modeli 3D poszczególnych brodawek smakowych z przestrzennym obrazowaniem trzonów łącznotkankowych i kubków smakowych. Uważam, że wybór tematu badawczego recenzowanej rozprawy doktorskiej jest bardzo trafny, a uzyskane wyniki badań znacząco pogłębiają zasób wiadomości we wspomnianym wcześniej zakresie.

Przedstawiona do oceny rozprawa doktorska stanowi opracowanie dwuczęściowe. Jedna z części zawiera tekst rozprawy, a w drugiej zamieszczono wszystkie tabele oraz ryciny. Część tekstowa, obejmująca 109 stron maszynopisu, posiada układ typowy dla tego rodzaju opracowań z następującymi po sobie rozdziałami: **Streszczenie** (w języku polskim i angielskim) **Wstęp**, **Hipoteza badawcza i cele pracy**, **Materiały i metody**, **Wyniki**, **Dyskusja**, **Wnioski** oraz **Literatura i Spis załączników**. W pracy Doktorantka powołuje się na dane zaczerpnięte z obszernego, liczącego 140 pozycji piśmiennictwa, w przeważającej mierze anglojęzycznego. Należy zaznaczyć, że piśmiennictwo zostało starannie i adekwatnie dobrane, a kluczowe pozycje obejmują prace zawierające najbardziej aktualne, w kontekście prezentowanej tematyki, dane.

We **Wstępie** Doktorantka bardzo szczegółowo przedstawiła aktualny stan wiedzy na temat typów brodawek smakowych występujących u różnych gatunków ssaków, w tym także zwierząt egzotycznych, ich budowy makroskopowej i histologicznej. W rozdziale tym uwzględnione zostało również ciekawe zagadnienie dotyczące kwestii gatunkowego różnicowania kategorii odczuć smakowych oraz sposobów ich badania – stosuje się w tym kontekście metody badawcze behawioralne oraz genetyczne i molekularne. Poruszane problemy w sposób logiczny korespondują z podjętą przez Nią tematyką badawczą, a zapoznanie się z nimi ułatwia czytanie kolejnych części rozprawy.

W rozdziale **Hipoteza badawcza i cele pracy** Kandydatka przedstawiła hipotezę oraz 4 cele uwzględniające wszystkie aspekty podjętych przez Nią badań.

Doktorantka przeprowadziła badania na obszernym materiale badawczym pochodzącym w sumie od 21 osobników, w tym 3 reprezentowały grupę zwierząt roślinożernych przeżuujących (bydło, dziko żyjący żubr europejski oraz zubroń), 8 reprezentowało grupę zajęczaków (królik europejski, zajęc szarak oraz królik domowy), a 10 - grupę zwierząt drapieżnych (kot domowy i pies domowy).

W rozdziale **Materiały i metody** szczegółowo omówiła metody dotyczące zarówno utrwalenia materiału badawczego jak i obserwacji makro- oraz i mikroskopowych. Należy podkreślić fakt, że zrealizowane badania mają charakter niezwykle wszechstronny bowiem zostały przeprowadzone przy zastosowaniu wielu adekwatnych i komplementarnych metod. Odpowiednio przygotowane preparaty histologiczne brodawek smakowych były poddane analizie przy zastosowaniu mikroskopu świetlnego, jak również stanowiły podstawę do przygotowania komputerowych modeli trójwymiarowych oraz pomiarów morfometrycznych. Na podstawie zdjęć makroskopowych obliczono liczbę i gęstość brodawek grzybowatych na poszczególnych częściach języków badanych osobników. Ponadto na modelach 3D brodawek

smakowych określono liczbę kubków smakowych w pojedynczej brodawce.

W badaniach wykorzystano również skaningowy mikroskop elektronowy do obserwacji brodawek smakowych zajęczaków oraz zwierząt mięsożernych, m.in. do wizualizacji łącznotkankowego szkieletu tkanki, w tym sieci włókien kolagenowych.

Uzyskane rezultaty badań zostały wyczerpująco opisane w rozdziale **Wyniki**. Należy zaznaczyć, że recenzowana rozprawa została przygotowana bardzo starannie pod względem graficznym. Prezentowane doskonałej jakości fotografie i ryciny, jak również tabele oraz animacje video dotyczące modeli 3D różnych kategorii brodawek smakowych u osobników poszczególnych badanych grup zwierząt bardzo adekwatnie ilustrują uzyskane rezultaty i znacznie ułatwiają lekturę tego rozdziału.

Wyniki badań zostały omówione i poddane wszechstronnej analizie w rozdziale **Dyskusja**.

Rozprawę zamyka dosyć obszerny rozdział **Wnioski**, zredagowany w formie 10 paragrafów. Należy zaznaczyć, że wszystkie założenia pracy zostały zrealizowane a uzyskane ciekawe wyniki wszechstronnie charakteryzują morfologię, z uwzględnieniem topografii i mikrostruktury badanych brodawek smakowych.

W mojej ocenie, za ważne osiągnięcia pracy należy uznać jej kompleksowość i wszechstronność, oraz staranność wykonania. Należy podkreślić, iż w badaniach mikrostruktury brodawek smakowych, po raz pierwszy zastosowano metodę komputerowego tworzenia unikalnych trójwymiarowych modeli brodawek grzybowatych, okolonych i liściastych, wykazując znaczące zróżnicowanie specyfiki budowy trzonów łącznotkankowych tych struktur oraz gatunkowo-zależną zmienność rozmieszczenia i liczebności kubków smakowych. Rezultaty te uznaję za szczególnie cenne. Analiza 3D mikrostruktury wykazała występowanie siedmiu typów budowy trzonów łącznotkankowych brodawek grzybowatych, występujących w różnej konfiguracji w poszczególnych częściach języka. Ponadto umożliwiła ona unikalną wizualizację sposobów rozmieszczenia kubków smakowych oraz obliczenie ich liczby w pojedynczych brodawkach, co z kolei ujawniło zróżnicowanie ich liczebności w poszczególnych częściach języka w badanych grupach pokarmowych. Co również bardzo ciekawe, wartości dotyczące liczby kubków smakowych uzyskane na modelach 3D kilkakrotnie przewyższają te, które podawano we wcześniejszych publikacjach dotyczących osobników tych samych gatunków.

Ciekawą obserwacją jest, w mojej ocenie również ta, która dotyczy znaczących różnic co do liczby brodawek i kubków smakowych pomiędzy osobnikami należącymi do gatunków dziko żyjących wobec zwierząt udomowionych w grupach przeżuwaczy i zajęczaków.

Różnice te mogą sugerować istnienie wpływu diety i warunków środowiskowych na liczbę kubków smakowych.

W mojej opinii, ze względu na wszechstronność przeprowadzonych badań i co za tym idzie, uzyskanych wyników, recenzowana rozprawa doktorska może stanowić bardzo dobry punkt wyjścia i odniesienia dla dalszych badań nad np. unerwieniem brodawek smakowych.

Reasumując, stwierdzam, że przedłożona do oceny praca mgr Barbary Kruszyńskiej spełnia wszystkie wymogi ustawowe stawiane rozprawom doktorskim. Napisana jest zasadniczo przejrzysto, poprawnym językiem polskim z odpowiednio dobraną, znakomitą jakością szatą graficzną. Zastosowana wszechstronna, adekwatna i nowoczesna metodyka w pełni odpowiada standardom obowiązującym w tego typu badaniach i generalnie nie wzbudza wątpliwości.

Z obowiązku recenzenta muszę jednak zwrócić uwagę na pewne niedociągnięcia. Nie umniejszają one wartości merytorycznej pracy, powinny jednak, moim zdaniem, zostać uwzględnione i poprawione przed jej opublikowaniem oraz uwzględnione w przypadku projektowania w przyszłości doświadczeń o podobnym charakterze.

Uważam, że praca powinna zawierać odniesienie do kwestii wieku i płci (zajączaki, mięsożerne) osobników, na których przeprowadzano badania. Jeśli nawet zakłada się, że wspomniane dane nie będą miały istotnego wpływu na uzyskane wyniki, to w moim przekonaniu, uwzględnienie takich informacji powinno stanowić pewien standard w przypadku redagowania poważnych opracowań naukowych. W tym kontekście, za nieco kuriozalne uznaję stwierdzenie, że „Zwierzęta użyte do badań nie wykazywały dymorfizmu płciowego”, ponieważ można je zinterpretować w ten np. sposób, że nie można było ustalić ich płci, choć zakładałam, iż odnosi się ono do samych obiektów badań, czyli języków.

Odnosnie wspomnianego wieku zwierząt, należy nadmienić, że różne parametry morfometryczne ciała, np. takie, które dotyczą struktur głowy, jak zatoki przynosowe, ulegają dosyć głębokim zmianom wraz z wiekiem osobnika (uwaga ta dotyczy także ludzi), zatem nie wystarczy stwierdzić, że w badaniach wykorzystano osobniki dojrzałe płciowo (choć i takiej informacji nie podano w recenzowanej dysertacji), ale w moim przekonaniu, należałoby w miarę precyzyjnie podać ich wiek, a w ogóle, to należy zawsze dążyć do ujednolicenia materiału badawczego pod każdym możliwym względem.

Ponadto można mieć też zastrzeżenia odnośnie informacji na temat liczby zwierząt, zajączaków, gatunków dziko żyjących – podano, że „badania przeprowadzono na 5 językach”, ale ile narządów pochodziło od królika europejskiego a ile od zająca szaraka.

Rozdział 6 „Wnioski” ma raczej charakter podsumowujący, o czym świadczy np. duża liczba (10) paragrafów. W tytule rozdziału zabrakło więc, moim zdaniem, określenia „podsumowanie” (np. „Podsumowanie i wnioski”).

Uważam, że liczbę wniosków można byłoby zredukować, poprzez rezygnację z tych, które zawierają stwierdzenia natury ogólnej a nawet wręcz podręcznikowej – np. wniosek 2 można wyprowadzić na podstawie danych zawartych w podręcznikach anatomii zwierząt przeznaczonych m.in. dla studentów wydziałów medycyny weterynaryjnej. W przypadku innych wniosków można byłoby uwypuklić te dane, które dotyczą zagadnień wcześniej nie badanych, bądź pozostają w dużym kontraście do wcześniej publikowanych wyników badań, jak np. w przypadku wniosku 7, w którym słusznie zwrócono uwagę na fakt, iż „wyniki uzyskane na modelach 3D kilkakrotnie przewyższają wartości opisywane wcześniej u badanych gatunków” (chodzi o liczbę kubków smakowych).

Ponadto moje pewne zastrzeżenia budzi stylistyka dotycząca sposobu zredagowania niektórych wniosków, np. pierwsze zdanie wniosku 4 należałoby, przynajmniej częściowo, przeredagować w sposób następujący: „Analiza 3D mikrostruktury trzonów łącznotkankowych brodawek grzybowatych wykazała istnienie siedmiu typów ich budowy, które występują w różnych konfiguracjach w poszczególnych częściach języka”. Generalnie całe opracowanie zawiera pewną liczbę niezręcznych sformułowań które mogę zaakceptować, bowiem z uwagi na dużą wartość merytoryczną rozprawy, wychodzę z założenia, że zostanie ona opublikowana w formie kilku prac w renomowanych anglojęzycznych czasopismach naukowych.

Jak wspomniałem, przytoczone powyżej uwagi w niczym nie umniejszają wartości merytorycznej recenzowanej rozprawy doktorskiej, którą oceniam bardzo wysoko, ponieważ wnosi istotne, nowe dane do wiedzy na temat budowy brodawek smakowych języka u wybranych, ważnych dla medycyny weterynaryjnej gatunków ssaków.

Stwierdzam zatem, iż odpowiada ona w pełni wymogom stawianym dysertacjom na stopień naukowy doktora, określonym w art. 187 ustawy z 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym (Dz.U. 2024 poz. 1571 z późn. zm.) i wnoszę do Wysokiej Rady Wydziału Medycyny Weterynaryjnej Uniwersytetu Przyrodniczego we Wrocławiu o dopuszczenie jej do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Wnioskuję także o wyróżnienie recenzowanej dysertacji. Jak wspomniałem, w mojej ocenie, za ważne osiągnięcia pracy uznaję jej kompleksowość i wszechstronność, oraz staranność wykonania. Należy również podkreślić, iż w badaniach mikrostruktury brodawek

smakowych, po raz pierwszy zastosowano metodę komputerowego tworzenia unikalnych trójwymiarowych modeli tych struktur, wykazując znaczące zróżnicowanie specyfiki budowy ich trzonów łącznotkankowych oraz gatunkowo-zależną zmienność rozmieszczenia i liczebności kubków smakowych. Rezultaty te uznaję za szczególnie cenne.

KIEROWNIK KATEDRY

prof. dr hab. Jerzy Kaleczyński, prof. zw.

