



dr hab. Weronika Rupik, prof. UŚ
Uniwersytet Śląski w Katowicach
Wydział Nauk Przyrodniczych
Instytut Biologii, Biotechnologii i Ochrony Środowiska
e-mail: weronika.rupik@us.edu.pl
tel. 32-359-18-20

Katowice, 05 maja 2025 r.

RECENZJA

rozprawy doktorskiej mgr **Barbary Kruszyńskiej**

pt. „**Analiza mikrostrukturalna brodawek smakowych u wybranych gatunków przeżuwaczy
(Ruminantia), zajęczaków (Lagomorpha)
i zwierząt drapieżnych (Carnivora)**”,

wykonanej w Pracowni Histologii i Embriologii Zwierząt

Katedry Fizjologii Biochemii i Biostruktury Zwierząt Wydziału Medycyny Weterynaryjnej i Nauk o
Zwierzętach Uniwersytetu Przyrodniczego w Poznaniu pod kierunkiem naukowym Pani prof. dr
hab. Hanny Jackowiak – promotora, z udziałem Pani dr hab. Kingi Skieresz-Szewczyk - promotora
pomocniczego.

Badania naukowe zaprezentowane przez Doktorantkę wpisują się w nurt badań związanych z analizą morfo funkcjonalną i porównawczą budowy języka i podniebienia wybranych grup pokarmowych ssaków, które prowadzone są w Pracowni Histologii i Embriologii Zwierząt Katedry Fizjologii Biochemii i Biostruktury Zwierząt Wydziału Medycyny Weterynaryjnej i Nauk o Zwierzętach Uniwersytetu Przyrodniczego w Poznaniu przez zespół prof. dr hab. Hanny Jackowiak.

Przedmiotem dysertacji była analiza mikrostrukturalna brodawek smakowych wybranych gatunków: przeżuwaczy (bydła, żubra europejskiego i żubronia), zajęczaków (królika europejskiego i domowego oraz zająca) i zwierząt drapieżnych (psa i kota domowego). Badania z wykorzystaniem zwierząt mięsożernych oraz zajęczaków były finansowane w ramach projektów dla Młodych Naukowców w latach 2021 – 2022. Zgodnie z ustawą o ochronie zwierząt wykorzystywanych do celów naukowych lub edukacyjnych z dnia 15 stycznia 2015 r. (Dz. U. 2015 poz. 266) i późniejszymi zmianami w w/w ustawie (Dz. U. z 2021 r. poz. 1331) zaplanowane badania nie wymagały zgody Lokalnej Komisji Etycznej. Realizacja ambitnych celów rozprawy możliwa była dzięki zastosowaniu szerokiego zestawu technik i metod badawczych obejmujących: mikroskopię świetlną, skaningową mikroskopię elektronową, a także macerację chemiczną, która posłużyła do wizualizacji trzonów łącznotkankowych brodawek oraz, co należy podkreślić, komputerową



metodę tworzenia modeli 3D poszczególnych typów brodawek smakowych z przestrzennym obrazowaniem trzonów łącznotkankowych i kubków smakowych zastosowaną po raz pierwszy w badaniach narządu smaku ssaków.

Formalny opis rozprawy

Manuskrypt rozprawy doktorskiej liczy 110 stron (wliczając w to stronę tytułową i strony niebędące bezpośrednio związane z rozprawą) i zawiera typowe dla pracy naukowej rozdziały: Streszczenie w języku polskim i angielskim; Wstęp - wprowadzenie; Materiał i metody; Wyniki; Dyskusja; Wnioski, Bibliografia i załączniki – pdf autorskiej publikacji naukowej (BMC Veterinary Research. <https://doi.org/10.1186/s12917-021-03111-5>) oraz 2 oświadczenia o współautorstwie. Tekst zawiera 109 stron, tym bibliografia licząca 140 pozycji, z czego znaczna część to prace z ostatniej dekady, 19 tablic z danymi morfometrycznymi 48 rycin i 15 animacji.

Ocena merytoryczna

1. Wprowadzając czytelnika w zagadnienia badawcze rozprawy doktorskiej, Autorka w obszernym **wstępie** zawarła istotne informacje, które ułatwiają czytelnikowi zgłębienie trudnego i zarazem obszernego tematu dysertacji. Dokonując szczegółowego przeglądu literatury wskazała, że język ssaków jest narządem o wydłużonym kształcie, często przytwierdzonym do jamy gębowej za pomocą wędzidełka. Narząd ten pełni istotną rolę w procesach związanych z pobieraniem pokarmu, jego obróbką mechaniczną oraz analizą sensoryczną. Ocenę sensoryczną przyjmowanego pokarmu umożliwiają wyspecjalizowane brodawki smakowe języka zawierające kubki smakowe z komórkami receptorowymi. Struktura i rozmieszczenie brodawek językowych ssaków zależy od diety, sposobu przyjmowania pokarmu oraz środowiska, co zostało wykazane w licznych badaniach anatomicznych i mikroskopowych przeprowadzonych na różnych gatunkach. Brodawki smakowe ssaków dzielą się na trzy główne typy: grzybowate, okolone i liściaste, które występują w różnych kombinacjach w zależności od diety gatunku. U roślinożerców i ssakach mięsożernych brodawki grzybowate pełnią funkcję smakową, a brodawki okolone są rozmieszczone w specyficzny sposób, zależnie od rodzaju diety, natomiast brodawki liściaste są mniej powszechne. Badania mikroskopowe brodawek grzybowatych wykazały ich różnorodną budowę, od prostych struktur do bardziej skomplikowanych, jak palczaste czy grzybowate, w zależności od gatunku. Ponadto, lektura wstępu wskazuje, że u roślinożerców obecne są szczególne struktury, takie jak wał języka, który pomaga w rozcieraniu pokarmu, a niektóre gatunki mięsożernych, jak koty, posiadają

charakterystyczne brodawki nitkowate służące do wyczesywania sierści. Kubki smakowe w brodawkach składają się z kilku typów komórek receptorowych, które odpowiadają za percepcję różnych smaków: słodkiego, gorzkiego, kwaśnego, słonego i umami. Ponadto Doktorantka wskazała, że w ostatnich latach odkryto się dwie nowe kategorie smaków: kokumi oraz fat taste. Kokumi odnosi się do intensyfikacji wrażeń smakowych podczas jedzenia i jest związany z pochodnymi kwasu glutaminowego, natomiast fat taste dotyczy reakcji specyficznych receptorów, które aktywują się w odpowiedzi na kontakt z kwasami tłuszczowymi. Jak podaje Doktorantka, badania genetyczne wykazały, że niektóre gatunki, jak, przykładowo koty, utraciły zdolność odbierania smaku słodkiego z powodu mutacji genetycznej, ale mogą wyczuwać inne smaki, jak np. umami. Na podstawie dostępnego piśmiennictwa Doktorantka wykazała, że struktura języka ssaków jest silnie związana z ich ekologicznymi i dietetycznymi potrzebami, a zmysł smaku odgrywa kluczową rolę w ewolucji ich zachowań pokarmowych i adaptacji do różnych warunków środowiskowych. Ponadto, wskazała, że wyniki dotychczasowych badań brodawek smakowych ssaków potwierdzają ich znaczącą zmienność strukturalną, co sprawia, że istnieje konieczność nowego spojrzenia na mikrostrukturę tych narządów uwzględniającego ich polimodalność – odpowiedź nie tylko na bodźce smakowe, ale także dotykowe i termiczne. Wstęp kończy uzasadnienie podjęcia badań nad mikrostrukturą brodawek smakowych zwierząt o zróżnicowanej taksonomii, diecie i środowiskowych warunkach bytowania oraz charakterystyka wyselekcjonowanych do badań trzech grup zwierząt: przeżuwacze, zajęczaki oraz mięsożerne z różnymi preferencjami żywieniowymi.

W rozdziale wstęp na podkreślenie zasługuje bardzo obszerny i skrupulatnie przygotowany przegląd literatury dotyczącej prezentowanych zagadnień, który Doktorantka przygotowała na podstawie licznie zgromadzonego aktualnego piśmiennictwa przedmiotowego. Takie podjęcie tematu już we wstępie z jednej strony wskazuje na kontekst i wagę podjętych badań, a także świadczy o bardzo dobrym teoretycznym przygotowaniu Doktorantki do realizacji zaplanowanych zadań badawczych. Jednakże pisząc ten rozdział Doktorantka nie ustrzegła się od drobnych niedociągnięć.

Uwagi krytyczne: uzasadnienie podjęcia badań nad mikrostrukturą brodawek smakowych zwierząt o zróżnicowanej taksonomii, diecie i środowiskowych warunkach bytowania oraz charakterystyka wyselekcjonowanych do badań grup zwierząt powinny się znaleźć w rodzicielu 2 - Hipoteza i cele pracy.

2. Na etapie planowania badań Doktorantka postawiła hipotezę badawczą: „Mikrostruktura poszczególnych typów smakowych brodawek językowych wybranych gatunków przeżuwaczy, zajęczaków i zwierząt drapieżnych jest podobna, przy czym charakterystyka rozmieszczenia i liczebności kubków smakowych jest gatunkowo specyficzna”. Do weryfikacji hipotezy wyznaczyła precyzyjnie sformułowane zadania badawcze, które określiła jako cele pracy. Zadania te obejmowały: 1. Ocenę rozmieszczenia brodawek językowych i ich morfologii w poszczególnych częściach języka wybranych gatunków przeżuwaczy, zajęczaków i zwierząt mięsożernych z zastosowaniem mikroskopii świetlnej oraz skaningowej mikroskopii elektronowej; 2. Analizę mikrostrukturalną brodawek grzybowatych, okolonych i liściastych badanych ssaków z wykorzystaniem metody trójwymiarowej rekonstrukcji obrazu w celu scharakteryzowania budowy szkieletu łącznotkankowego brodawek (CTC), jak również ustalenia sposobu rozmieszczenia i liczebności kubków smakowych; 3. Analizę porównawczą mikrostruktury smakowych brodawek językowych ssaków należących do odrębnych grup żywieniowych, tj. zwierząt roślinożernych i mięsożernych z uwzględnieniem zwierząt dziko żyjących oraz udomowionych; 4. Ocenę efektywności trójwymiarowej rekonstrukcji obrazu w badaniach mikrostrukturalnych smakowych brodawek językowych ssaków.

Uwagi krytyczne: Brak jasno określonego celu, dla którego te zakrojone na bardzo szeroką skalę badania zostały podjęte, jaki problem naukowy miały rozwiązać lub przybliżyć. W mojej ocenie przedstawione w czterech punktach cele pracy, to raczej spis zadań badawczych, który posłużył do udowodnienia lub zanegowania hipotezy, a nie cele. Uważam, że właściwe cele są rozproszone w obrębie tych czterech zadań. Jako cele zaklasyfikowałabym pkt. 2 oraz pkt. 4. Natomiast pkt. 1 i pkt. 3, to zadania prowadzące do weryfikacji hipotezy. Przypuszczam, się, że zamieszczenie w tym rozdziale uzasadnienia podjęcia badań oraz charakterystyki wyselekcjonowanych do badań grup zwierząt znacznie ułatwiłoby wskazanie celu głównego, którym wydaje się być rozwiązanie problemu różnorodności mikrostruktury języka przeżuwaczy, zajęczaków i zwierząt drapieżnych w kontekście preferencji pokarmowych.

3. Rozdział **Materiał i metody** podzielony jest na podrozdziały obejmujące charakterystykę i pochodzenie materiału badawczego (3.1) oraz metodykę badań (3.2). Podrozdział 3.2 podzielony jest na 6 sekcji (3.2.1 - 3.2.6), w których szczegółowo opisano: Utrwalenie materiału, obserwacje makroskopowe oraz przygotowanie prób badawczych do dalszych



procedur badań mikroskopowych; Przygotowanie preparatów histologicznych do obserwacji w mikroskopie świetlnym; Przygotowanie modeli trójwymiarowych brodawek smakowych i znakowanie ich trzonów łącznotkankowych oraz kubków smakowych; Analiza morfometryczna brodawek smakowych badanych gatunków ssaków; Przygotowanie prób tkankowych do obserwacji w skaningowym mikroskopie elektronowym; Przygotowanie prób tkankowych do obserwacji trzonów łącznotkankowych brodawek smakowych w skaningowym mikroskopie elektronowym. Metody i techniki badawcze zostały opisane obszernie i skrupulatnie, co wskazuje, że Pani magister Kruszyńska perfekcyjnie opanowała różnorodny i nowoczesny warsztat badawczy, obejmujący zarówno obserwacje makroskopowe, metody morfometryczne, nowoczesne metody mikroskopii elektronowej SEM oraz technikę modelowania 3D. Zastosowane metody w pełni pozwoliły na realizację celów badawczych, a Doktorantka zadała sobie wiele trudu w dostosowanie metodyki do obiektów badawczych. Jednakże, jak się często zdarza w obszernych opracowaniach w rozdziale tym, Autorka nie ustrzegła się drobnych błędów.

Uwagi krytyczne: w podrozdziale 3.1. dla określenia masy ciała zwierząt wykorzystanych do badań używany jest termin „waga ciała”. Chociaż w języku potocznym „masa” i „waga” często używane są zamiennie, to w nauce i medycynie należy odróżniać te pojęcia. W sekcji 3.2.2. podrozdziału 3.2., podano temperaturę cieplarki „600C” i „400C”, przypuszczam, że powinno być 60°C i 40°C, ponadto medium do zamykania preparatów histologicznych, to DPX, nie jak podano w tekście DePeX. Ponadto, w sekcji 3.2.3. należałoby wyjaśnić pojęcie „woksel”. Należy zwrócić uwagę, że ostatnie dwie sekcje (3.2.5. -3.2.6.) podrozdziału 3.2. są opisane mało precyzyjnie.

4. Przedstawione w dysertacji wyniki zostały opracowane w oparciu o 4 manuskrypty przedstawiające wyniki badań oryginalnych, które zostały opublikowane lub wysłane do recenzowanych czasopism naukowych o wysokim współczynniku oddziaływania JCR (opublikowany - BMC Veterinary Research - plik PDF dołączony do dysertacji; w recenzji: Annals of Anatomy; Veterinary Research Communication oraz The Veterinary Journal). Rozdział ten podzielony na 11 podrozdziałów, w obrębie, których znajdują się sekcje. Lektura tego rozdziału pokazuje ogrom pracy włożonej przez Doktorantkę do realizacji zamierzonych celów. Na podstawie analizy wyników badań mogę stwierdzić, że wszystkie zaplanowane przez Doktorantkę zadania badawcze zostały w pełni zrealizowane, a uzyskane dane posłużyły do weryfikacji hipotezy badawczej. Ponadto, przedstawione przez

Doktorantkę wyniki badań potwierdziły efektywność zastosowanej po raz pierwszy techniki modelowania 3D w analizach mikrostrukturalnych brodawek smakowych ssaków, która z całą pewnością okaże się przydatna w badaniach narządu smaku różnych gatunków ssaków zarówno w warunkach fizjologicznych, jak i patologicznych. Po jakości i staranności wykonania preparatów i ich analizy widać, że Doktorantka zdobywała wiedzę w bardzo dobrym zespole kierowanym przez panią prof. dr hab. Hannę Jackowiak, wytrawnego histologa i morfologa. Należy również podkreślić, że obszerne, drobiazgowo opisane i udokumentowane doskonałymi mikrofotografiami oraz trójwymiarowymi rekonstrukcjami wyniki badań Doktorantki wnoszą wiele nowych i ciekawych danych do badanego zagadnienia.

5. Dyskusja – Rozdział ten jest podzielony na 4 podrozdziały, co bardzo ułatwia śledzenie toku myślenia Doktorantki. W omówieniu uzyskanych wyników i ich dyskusji Doktorantka wykazała się umiejętnością interpretacji wyników badań własnych oraz ich krytyczną i analizą, którą dyskutował wobec dobrze dobranego piśmiennictwa.
6. Rozprawa doktorska zakończona jest rozdziałem Wnioski. Ten rozdział jest zredagowany w postaci 10 punktów, które są bardziej podsumowaniem wyników, niż właściwymi wnioskami. Jest to zresztą prosta konsekwencja niezbyt dobrze sformułowanych celów pracy, (o czym było powyżej). Punkty 1, 2, 3 i 4 stanowią potwierdzenie założonej hipotezy badawczej, natomiast punkty 5, 8, 9 i 10 precyzyjnie określają znaczeniu projektu. Pozostałe punkty (6, 7) to podsumowanie uzyskanych wyników.

Po przestudiowaniu całości dysertacji pragnę podkreślić, że zawarte w recenzji krytyczne uwagi w żadnym stopniu nie obniżają wysokiej wartości przedstawionej pracy. Mam świadomość, że w tak obszernym i wieloaspektowym opracowaniu trudno ustrzec się błędów. Z całą stanowczością stwierdzam, że praca mgr Barbary Kruszyńskiej wnosi do nauki nowe cenne dane obrazujące zróżnicowanie mikrostruktury brodawek smakowych i zlokalizowanych w nich kubków smakowych ssaków o różnych preferencjach pokarmowych. Dostarcza informacji na temat różnic w rozmieszczeniu brodawek smakowych zwierząt roślino- i mięsożernych w kontekście gatunkowej specyfiki poszczególnych części języka. Wyniki tej pracy wskazują istotną zmienność ich rodzajów, co zostało ustalone po raz pierwszy na podstawie analizy modeli 3D łącznotkankowych trzonów brodawek smakowych. Ponadto, Doktorantka opisała w brodawkach grzybowatych siedem morfologicznie odmiennych typów trzonów łącznotkankowych, które występują w różnych konfiguracjach w zależności od części języka. Warto podkreślić, że wyniki uzyskane na podstawie



modelowania 3D umożliwiły także porównanie rozmieszczenia kubków smakowych w brodawkach i wskazały, że struktury te mogą być rozmieszczone równomiernie, ułożone w pasma lub rzędy, bądź skupione w grupy. Równie ważną informacją wydaje się być ustalanie liczby kubków smakowych w pojedynczych brodawkach na różnych obszarach języka. Zróżnicowanie to opisano zarówno pomiędzy badanymi grupami zwierząt o różnych preferencjach pokarmowych, jak i pomiędzy gatunkami dziko żyjącymi a udomowionymi. Scharakteryzowanie rozmieszczenia oraz cech jakościowych i ilościowych mikrostruktury brodawek smakowych umożliwiło wyróżnienie dwóch kluczowych obszarów języka o zwiększonej percepcji smaku takich jak: obszar preselekcji pokarmu – zlokalizowany na wierzchołku języka oraz obszar analizy chemicznej pokarmu – znajdujący się w tylnej części trzonu języka.

W podsumowaniu stwierdzam, że przedstawiona od oceny rozprawa doktorska Pani mgr Barbary Kruszyńskiej jest oryginalnym rozwiązaniem problemu badawczego i dowodzi umiejętności samodzielnego prowadzenia badań naukowych, spełniając tym samym warunki określone w art. 187 ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (tekst jednolity Dz.U. z 2020 r. poz. 85 z późn. zm.). W związku z powyższym wnoszę do Rady Naukowej Dyscypliny Nauki Biologiczne, Wydziału Medycyny Weterynaryjnej i Nauk o Zwierzętach Uniwersytetu Przyrodniczego w Poznaniu o dopuszczenie mgr Barbary Kruszyńskiej do dalszych etapów przewodu doktorskiego. Jednocześnie wnioskuję o wyróżnienie dysertacji motywując wniosek nowatorskim i szerokim zakresem przeprowadzonych badań oraz wysoką wartością merytoryczną uzyskanych wyników, które w sposób istotny poszerzają naszą wiedzę na temat mikrostruktury brodawek smakowych języka wybranych gatunków ssaków.

Weronika Rupik

