

STRESZCZENIE ROZPRAWY DOKTORSKIEJ POD TYTUŁEM: „WYKORZYSTANIE ULTRASONOGRAFII W OCENIE PRZEBIEGU CIĄŻY I DIAGNOSTYCE PRENATALNEJ U OWIEC”

Angelika Brzozowska

Celem naukowym rozprawy doktorskiej było zbadanie parametrów morfometrycznych łożyska i ocena przepływów krwi w krążeniu łożyskowo-pępowinowym oraz określenie możliwości wczesnej diagnozy ciąży u owiec z wykorzystaniem techniki ultrasonograficznej.

Badania wykonano na owcach pomorskich i rasy Suffolk utrzymywanych na fermie owiec w Zakładzie Doświadczalnym Instytutu Zootechniki Państwowego Instytutu Badawczego w Kołbaczu. Owce były kryte w czasie ich naturalnego sezonu rozrodczego, nie stosowano metod synchronizacji rui. Okres trwania ciąży określono na podstawie dnia pokrycia i potwierdzano retrospektywnie po porodzie.

W badaniach przeprowadzono analizę morfometryczną łożysk pozyskanych po porodzie uwzględniając wiek macierek, wielkość miotu, płeć i masy urodzeniowej jagniąt. Wykorzystując ultrasonografię dopplerowską przeprowadzono ocenę hemodynamiki w naczyniach łożyskowo-pępowinowych u ciężarnych owiec. Określono też przydatność różnych parametrów ultrasonograficznych we wczesnej diagnozie ciąży u owiec.

Uzyskane wyniki wykazały, że parametry morfometryczne owczych łożysk zależą od wieku macierek, wielkości miotu, płci i masy urodzeniowej jagniąt. Dlatego też parametry te powinny być uwzględniane w ultrasonograficznej ocenie rozwoju łożyska u owiec.

Przeprowadzone badania wskazują na możliwość wykorzystania ultrasonografii dopplerowskiej w monitorowaniu hemodynamiki naczyń łożyskowo-pępowinowych podczas ciąży u owiec. Wykazano, że zarówno lokalizacja naczynia tętniczego w krążeniu łożyskowo-pępowinowym, jak i wiek ciążowy mają istotny wpływ na parametry hemodynamiczne tych naczyń. Uzyskane wyniki dostarczają też nowych informacji dotyczących przepływów krwi w naczyniach zlokalizowanych w łożyszczach, co przyczyni się do pełniejszego poznania zmian hemodynamicznych

w łożysku owczym. Uzyskane wyniki potwierdzają przydatność transrektalnej ultrasonografii we wczesnej diagnozie ciąży u owiec.

Wskazują też, że identyfikacja i obrazowanie ciała żółtego za pomocą ultrasonografii B-Mode może być bardzo wczesną i prostą metodą potwierdzającą skuteczne krycie u owiec.

03.02.2023r. *Borowska Angelika*
data i podpis doktoranta składającego pracę doktorską

Lublin, dn. 13.06.2023r.

Prof. dr hab. Andrzej Junkuszew.
Katedra Hodowli Zwierząt i Doradztwa Rolniczego
Zakład Hodowli Małych Przeżuwaczy
i Stacja Doświadczalna im. prof. T. Efniera
Wydział Nauk o Zwierzętach i Biogospodarki
Uniwersytet Przyrodniczy
w Lublinie

Recenzja

rozprawy doktorskiej mgr inż. Angeliki Brzozowskiej pt. „Wykorzystanie ultrasonografii w ocenie przebiegu ciąży i diagnostyce prenatalnej u owiec” wykonanej w Katedrze Biotechnologii Rozrodu Zwierząt i Higieny Środowiska Wydziału Biotechnologii i Hodowli zwierząt Zachodniopomorskiego Uniwersytetu Technologicznego w Szczecinie

Przedstawione do oceny materiały zostały przygotowane poprawnie moim zdaniem spełniają wymogi formalne określone w art. 187 ustawy z dnia 20 lipca 2018 r Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. 2022 poz. 574 z późn. zm.).

Dysertacja doktorska Pani mgr inż. Angeliki Brzozowskiej pt. „Wykorzystanie ultrasonografii w ocenie przebiegu ciąży i diagnostyce prenatalnej u owiec” stanowi zbiór dwóch spójnych tematycznie prac opublikowanych w latach 2020-2022. Dotyczy problematyki związanej z wykorzystaniem ultrasonografii w ocenie przebiegu ciąży i diagnostyce prenatalnej u owiec. Oceniana praca ma charakter naukowo-badawczy, napisana jest poprawnym językiem polskim z zastosowaniem słownictwa naukowego i formalnie odpowiada wymogom zawartym ww. Ustawie. Od strony formalnej praca nie wzbudza zastrzeżeń.

Przedstawiona do recenzji rozprawa zawiera 48 stron maszynopisu i składa się z następujących części: strony tytułowej, spisu treści, wykazu publikacji wchodzących w skład pracy doktorskiej wraz z podanym impact factorem, streszczenia w języku polskim i języku angielskim, celu pracy, wprowadzenia i uzasadnienia podjęcia badań, metodyki badań, uzyskanych wyników i ich omówienia, podsumowania i wniosków, wykazu użytego piśmiennictwa, wykazu załączników, dwóch prac stanowiących podstawę dysertacji doktorskiej oraz oświadczeń współautorów o udziale autorskim w publikacjach stanowiących podstawę pracy doktorskiej.

Pani mgr inż. Angelika Brzozowska przedstawiła do oceny cykl dwóch spójnych tematycznie publikacji pod wspólnym tytułem „Wykorzystanie ultrasonografii w ocenie przebiegu ciąży i diagnostyce prenatalnej u owiec”. Wyniki badań zostały opublikowane w następujących artykułach:

1. Angelika Brzozowska, Natalia Wojtasiak, Barbara Błaszczuk, Tomasz Stankiewicz, Marta Wieczorek-Dąbrowska, Jan Udała: **The effects of non-genetic factors on themorphometric parameters of sheep placenta and the birth weight of lambs** Large Animal Review 2020; 26: 119-126
2. Angelika Brzozowska, Tomasz Stankiewicz, Barbara Błaszczuk, Pavitra Chundekkad, Jan Udała, Natalia Wojtasiak: **Ultrasound parameters of early pregnancy and Doppler indices of blood vessels in the placenta and umbilical cord throughout the pregnancy period in sheep** BMC Veterinary Research (2022) 18:326

Jak wynika z danych bibliograficznych, cyklu publikacji powiązanych tematycznie, przedstawionych powyżej, wszystkie prace stanowiły opracowania zespołowe. We wszystkich wkład w powstanie pracy mgr inż. Angeliki Brzozowskiej kształtował się na poziomie 65 % We wszystkich dwóch pracach Doktorantka pełniła funkcję pierwszego autora. Natomiast w pracy pt „The effects of non-genetic factors on the morphometric parameters of sheep placenta and the birth weight of lambs” pełniła rolę także korespondencyjnego autora. Współautorzy prac przestawionego do oceny osiągnięcia złożyli wymagane deklaracje dotyczące swojego udziału w powstawaniu omawianych prac. W poszczególnych pracach udział wiodącej Doktorantki w ich tworzeniu nie budzi żadnych zastrzeżeń. Łączny wskaźnik impact factor publikacji, które stanowią podstawę powstałego opracowania mgr inż Angeliki Brzozowskiej pt. „Wykorzystanie

ultrasonografii w ocenie przebiegu ciąży i diagnostyce prenatalnej u owiec” wynosi IF = 3,209. Artykuły te zostały zamieszczone w zagranicznych czasopismach naukowych: Large Animal Review (IF= 0,417) oraz BMC Veterinary Research (IF=2,792). Należy podkreślić, że wyniki badań Doktorantki zostały opublikowane w uznanych czasopismach naukowych i zostały poddane „procesowi” opiniowania przez uznanych specjalistów z tego zakresu, co wskazuje na prawidłowy dobór tematu oraz właściwe zaplanowanie i przeprowadzenie badań.

Celem badań przedstawionych jako podstawę dysertacji doktorskiej mgr inż. Angeliki Brzozowskiej pt. „Wykorzystanie ultrasonografii w ocenie przebiegu ciąży i diagnostyce prenatalnej u owiec” było zbadanie parametrów morfometrycznych łożyska i ocena przepływów krwi w krążeniu łożyskowo - pępowinowym oraz określenie możliwości wczesnej diagnozy ciąży u owiec z wykorzystaniem ultrasonografii.

Podjęcie tego tematu uważam za wysoko zasadne, ponieważ dokładne poznanie czynników, które mogą mieć wpływ na rozwój płodu oraz przebieg ciąży u owiec ma duże znaczenie w chowie i hodowli zwierząt. Należy podkreślić że właśnie prawidłowy rozród jest jednym z głównych czynników wpływających na opłacalność produkcji.

Temat pracy doktorskiej jest aktualny, sformułowany jasno i precyzyjnie, cel podjętych badań został jasno przedstawiony i nie budzi mojej wątpliwości. Uwzględniając wszystkie powyżej przedstawione czynniki uważam podjęcie badań za uzasadnione.

W badaniach stanowiących podstawę przedstawionego do oceny osiągnięcia naukowego wykorzystano wg Autorki dwie rasy owiec owcę pomorską oraz rasę suffolk. Niestety w przedstawionych pracach wymieniona jest tylko jedna rasa będąca przedmiotem badań w pierwszej pracy, a mianowicie owca pomorska. Rozumiem, że informacja zawarta w rozdziale „Metody badań, uzyskane wyniki i ich omówienia”, a dotycząca rasy udziału w badaniach rasy suffolk jest uzupełnieniem braku takiej informacji w pracy zamieszczonej w BMC Veterinary Research.

Analizując rozdział 6. „Metody badań, uzyskane wyniki i ich omówienie” jest dla mnie niezrozumiałe dlaczego i w jakim celu potwierdzano retrospektywnie długość ciąży. Przecież jeżeli mamy datę pokrycia i wykotu to dokładnie wiemy jaka była długość ciąży. Założenie, że ciąża trwa 148 dni może być z założenia błędne, ponieważ różnice w jej trwaniu sięgające 2-5 dni, a nawet więcej, uważa się za fizjologiczne.

W podrozdziale 6.1 pt. „Realizacja celu pierwszego (cel szczegółowy I)” Autorka podaje, że w badaniach przeanalizowano 99 łożysk z ciąż pojedynczych i 29 łożysk z ciąż mnogich natomiast w pracy dotyczącej tego zagadnienia i będącej elementem dysertacji doktorskiej

jest podane, że „w pierwszym etapie do analiz porównawczych wykorzystano łożyska pochodzące z cięż pojedynczych ($n=94$) i bliźniaczych ($n=16$), z których urodziły się żywe jagnięta”. Proszę wyjaśnić, skąd wynika taka różnica pomiędzy pracą a tekstem zamieszczonym w rozprawie doktorskiej.

W pracy, niestety, jest trochę chaosu. W mojej ocenie warto na przyszłość pomyśleć nad pełniejszym uwidocznieniem spójności realizowanego celu pracy. W mojej ocenie niewątpliwie praca jest spójna, ale dla lepszego zobrazowania zrealizowanych celów pracy warto pomyśleć o uwzględnieniu przy omawianiu rezultatów pomiarów wyników zawartych zarówno w jednej jak drugiej pracy np. przy realizacji celu pierwszego Autorka powołuje się jedynie na pracę pierwszą, a przecież wiele ciekawych obserwacji dotyczących cech morfotycznych zostało zawartych w drugiej z cyklu prac będących składnikami dysertacji.

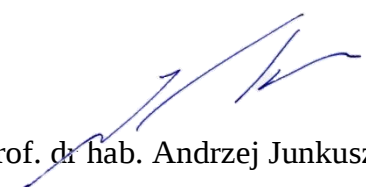
Na przyszłość można byłoby też pomyśleć nad uściśleniem terminów pomiarów, ponieważ podawanie, że pomiar był realizowany w odstępach kilkudniowych jest mało precyzyjne z punktu widzenia naukowego.

Warto także ujednolicić treść rozdziału „Streszczenie” i „Abstract”, ponieważ treść napisana w języku polskim tylko połowicznie odpowiada części angielskiej.

Podsumowanie

Uważam, że przedstawiona do recenzji rozprawa doktorska spełnia ustawowe i zwyczajowe kryteria, jakie są stawiane tego typu opracowaniom. Praca została właściwie zaplanowana i wykonana, a uzyskane wyniki przedstawiono w specjalistycznych czasopismach naukowych o zasięgu międzynarodowym.

Praca doktorska spełnia wymogi określone w art. 187 ustawy z dnia 20 lipca 2018 r Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. 2022 poz. 574 z późn. zm.). Dlatego zwracam się do Rady Naukowej Dyscypliny Zootechnika i Rybactwo, Zachodniopomorskiego Uniwersytetu Technologicznego w Szczecinie o dopuszczenie mgr inż. Angeliki Brzozowskiej do dalszych etapów przewodu doktorskiego.


prof. dr hab. Andrzej Junkuszew

Toruń, 23.05.2023 r.

Prof. dr hab. Jędrzej M. Jaśkowski
Uniwersytet Mikołaja Kopernika w Toruniu
Wydział Nauk Biologicznych i Weterynaryjnych
ul. Lwowska1
87-100 Toruń

Recenzja

Rozprawy doktorskiej pani mag inż. Angeliki Brzozowskiej

pt.” Wykorzystanie ultrasonografii w ocenie przebiegu ciąży i diagnostyce prenatalnej u
owiec”

Rozprawę doktorską pani mgr inż. Angeliki Brzozowskiej pod tytułem „Wykorzystanie ultrasonografii w ocenie przebiegu ciąży i diagnostyce prenatalnej u owiec” wykonano na prośbę Zachodniopomorskiego Uniwersytetu Technologicznego w Szczecinie, reprezentowanym przez pana dr hab. inż. Arkadiusza Pietruszkę, prof. ZUT.

Układ pracy i jej treść

W pracy uwzględniono dwie oryginalne, zbiorowe publikacje tematyczne, opublikowane w Large Animals Review oraz BMC Veterinary Research w latach odp. 2020 i 2022. W obu tych pracach pani Brzozowska jest pierwszym autorem. Praca liczy 20 stron nie wliczając obu wymienionych publikacji.

W streszczeniu — w języku polskim zawartym na stronach 2 i 3 i angielskim — strona 4 syntetycznie opisano cel pracy, oraz rodzaj przeprowadzanych badań, uwzględniając m.in. analizę morfometryczną łożysk u owiec rasy pomorskiej oraz Suffolk, z uwzględnieniem ich wieku, wielkość miotu, płci i masy urodzeniowej jagniąt. Określono także hemodynamikę w

naczyniach łożyskowo-pępowinowych owiec w ciąży, wykorzystując do tego celu ultrasonografię dopplerowską. W oparciu o badania ultrasonograficzne określono także przydatność różnych parametrów ultrasonograficznych? we wczesnej diagnozie ciąży. W badaniach wykazano zależność pomiędzy morfometrycznymi parametrami owczych błon płodowych a wiekiem maciurek, wielkością miotu, płcią i masą urodzeniową jagniąt, sugerując ocenę tych parametrów w ultrasonograficznej ocenie rozwoju łożyska owiec. W podsumowaniu zasugerowano, że uzyskane wyniki badań potwierdzają przydatność transrektalnej ultrasonografii we wczesnej diagnozie ciąży u owiec a także możliwość monitorowania hemodynamiki naczyń łożyskowo-pępowinowych podczas ciąży.

Na stronie 5 — przedstawiono szczegółowy plan naukowy pracy, wyznaczając — poza celem głównym - trzy zasadnicze cele szczegółowe.

Na stronach 6 — 8 dokonano krótkiego wprowadzenia, przedstawiając uzasadnienie dla podjęcia badań. Autorka przedstawia ewolucję łożyszczy, możliwości ich ultrasonograficznego pomiaru i określania na tej podstawie wieku ciążowego, zwracając uwagę na prawdopodobieństwo wpływu na tę dynamikę szeregu czynników indywidualnych takich jak wiek maciurek, wielkość miotu, płci i masy urodzeniowej jagniąt. Autorka zwraca uwagę na znaczenie doświadczenia w badaniach nad precyzyjną oceną ultrasonograficzną łożysk podczas ciąży, badania łożysk i błon płodowych pozyskanych po porodzie. W kolejnych fragmentach opisuje angiogenezę łożyskową i jej znaczenie dla rozwoju płodów oraz architekturę unaczynienia części macicznej łożyska a także skutki zaburzeń w krążeniu łożyskowo-płodowym takie jak zaburzenia wzrostu płodów, niskiej masy urodzeniowej i wyższej zachorowalności i śmiertelności we wczesnych okresach życia. W nawiązaniu do planowanych badań Autorka zwraca uwagę na brak szerszych badań na temat wskaźników przepływu krwi w naczyniach krwionośnych tworzących bezpośrednio unaczynienie łożyszczy oraz żyłę pępowinową. W efekcie sugeruje, że powyższe badania mogą stać się cennym i użytecznym wskaźnikiem prawidłowego rozwoju płodu. Dodatkowo; badanie ultrasonograficzne umożliwia wczesną diagnozę ciąży, stąd istotne znaczenie zdaniem Autorki — ma ocena parametrów pozwalających na jej wykrycie oraz zbadanie liczby zarodków/płodów.

W dalszych etapach badań oceniano przydatność badania wybranych tworów strukturalnych oraz obecności zarodka i pęcherzyka zarodkowego jako wskaźników wczesnej ciąży. Ciążę diagnozowano już między 20 a 28 dniem po pokryciu.

Ciekawą obserwacją jest brak tzw. jamki wewnątrz ciała żółtego podczas ciąży. U bydła obecność jamistych ciałek żółtych koreluje z wyższym poziomem progesteronu oraz wyższym

wskaźnikiem zacieleń, prawdą jest jednak, że jamka ulega stopniowej regresji podczas ciąży. Nie można więc wykluczać, że w późniejszym okresie ciąży obecność jamki (a tym samym wysokiego poziomu progesteronu) nie jest warunkiem niezbędnym do utrzymania ciąży. Z tego powodu obecność u ciężarnych samic litego ciała żółtego nie jest zaskoczeniem, podobnie jak fakt, że stwierdzenie ciała żółtego może być dodatkowym kryterium ciąży.

W rozdziale 7. W pięciu syntetycznych punktach przedstawiono podsumowanie oraz wnioski. Piśmiennictwo, obejmujące 29 pozycji, zamieszczono na stronach 15-19. Piętnaście prac opublikowano w latach 2010-2017, cztery kolejne pochodzą z ostatnich pięciu lat. Jedyna praca sprzed roku 2000 opublikowana była w 1998 roku.

Na stronie 19 zamieszczono wykaz załączników, obejmujący dwie publikacje w języku angielskim a to: The effects of non-genetic factors on the morphometric parameters of sheep placenta and the birth weight of lambs oraz „Ultrasound parameters of early pregnancy and "Doppler indices of blood vessels in the placenta and umbilical cord through the pregnancy period in sheep". wydane odpowiednio w roku 2020 i 2022. Obie zamieszczono w wartościowych czasopismach z listy filadelfijskiej. Obie posiadają wysoki Impact Factor (Large Animal Review (aktualny IF = 0,557 oraz BMC Veterinary Medicine, aktualny IF 2,792). Prace są obszerne, dobrze opracowane metodycznie i przemyślane, uzupełnione licznymi tabelami i barwnymi zdjęciami.

Ocena pracy

Kolorowa ultrasonografia jest kolejnym etapem rozwoju metod przyżyciowego obrazowania struktur organizmu. Ta pierwsza - przedstawiająca struktury na obrazie aparatu w różnych tonacjach bieli, szarości i czerni, pojawiła się w weterynarii na przełomie lat 70-tych i 80-tych ubiegłego wieku, osiągając swoje apogeum na początku tego tysiąclecia. Ujawniła ona szereg nowych możliwości oraz przyczyniła się do inspirujących odkryć, stając impulsem do dalszych badań eksperymentalnych. U dużych zwierząt gospodarskich i koni okazała się przydatna do wczesnej diagnozy ciąży, oceny dynamiki fal pęcherzykowych, odkrycia dotąd nieopisywanych struktur w mięszu ciała żółtego i ich dynamiki oraz wielu innych. Jej młodszą siostrą jest ultrasonografia kolorowa oraz dopplerowska, której możliwości diagnostyczne w ginekologii weterynaryjnej są stale poszerzane. Szczyt rozwoju tej metody u bydła i kłaczy to ostatnie kilka lat. Literatura odnośnie do badań nad wykorzystaniem tej metody diagnostyce ginekologicznej u owiec jest znacznie uboższa, stąd każde pojawienie się publikacji z tego zakresu ma bez wątpienia charakter oryginalny i nowatorski. W pierwszym etapie Autorka podjęła się oceny parametrów morfometrycznych łożysk owczych, w zależności

od szeregu czynników indywidualnych a następnie oceny parametrów dopplerowskich w naczyniach tętniczych i żylnych w części macicznej i płodowej łożyszcy oraz naczyniach pępowinowych. Sam temat jest interesujący zarówno z poznawczego jak i praktycznego punktu widzenia, rozszerzając znacząco możliwości diagnostyczne. Szczególnie interesująca wydaje się możliwość prognozowania sprawności łożyska na podstawie wielkości przepływów naczyniowych, w odniesieniu do możliwości utrzymania ciąży. Także powyższe badania przeprowadzone m.in. na lokalnych owcach, należą z pewnością do jednych z oryginalniejszych. Badania morfometryczne łożysk i błon płodowych po porodzie badano wcześniej u innych dużych zwierząt gospodarskich. Pojawiły się także analogiczne prace przeprowadzone u świń ras prymitywnych (niestety badań takich nigdy nie przeprowadzono u lokalnych świń krajowych, rasy puławskiej i złotnickiej). Ubogie są także podobne badania u owiec. Także i ten element dowodzie celności wyboru tematu. Z praktycznego punktu widzenia interesujące są także badania nad wykorzystaniem ultrasonografii w ustaleniu dodatkowych kryteriów potwierdzających ciążę u owiec. Autorka zwraca w nich uwagę na wykorzystanie do tego celu obecności ciała żółtego, wykrywanie płynu i zarodka wewnątrz rogu macicy czy wczesne wykrywanie łożyszcz. Każda z tych miar ma określoną wagę w zależności od dnia pewnego rozpoznania tych struktur. Nie ulega wątpliwości, że wymienione badania mają pewne znaczenie użytkowe i mogą znaleźć zastosowanie do wczesnej diagnozy ciąży u owiec. Na pochwałę zasługuje perfekcyjne posługiwanie się ultrasonografem dopplerowskim, już choćby z uwagi na fakt, że badana w konkretnym momencie samica nie może się poruszać. Uchwycenie takiego momentu nie jest łatwe i wymaga sporego doświadczenia.

W opracowaniu są pewne nieścisłości. Na przykład w polskojęzycznym streszczeniu Autorka wspomina wspomina o przydatności do badania wczesnej ciąży cyt. „różnych parametrów ultrasonograficznych”. Prosiłbym o wyjaśnienie, co Autorka miała na myśli. Ten detal — w postaci szczegółowego opisu tego co badano, powinien się znaleźć w streszczeniu. W streszczeniu użyto także określenia „naczynie tętnicze” w krążeniu łożyskowo-pępowinowym. Jaką nazwę ma to naczynie? Z innych uwag; przydałoby się także, by streszczenie w języku polskim było równie syntetyczne jak angielskie, zwłaszcza, że detale metodyczne, zawarte w wersji polskojęzycznej przedstawiono później w części metodycznej opracowania. W tym ujęciu streszczenie w języku angielskim, pozbawione nadmiaru szczegółów wydaje się celniejsze. Autorka podaje także, że między 20 a 28 dniem po kopulacji widoczne były zarodki a od 25 dnia pęcherzyki zarodkowe. O ile się nie mylę, wewnątrz macicy najpierw (wcześniej) widoczna jest płynna treść wypełniająca światło rogu macicy (pęcherzyk zarodkowy), potem dopiero dostrzegalne są struktury samego zarodka. Prawidłowo więc należałoby napisać że cyt.

: „bezpośrednim wskaźnikiem ciąży jest obecność pęcherzyka zarodkowego i zarodka” lub lepiej „bezpośrednim dowodem ciąży jest obecność pęcherzyka zarodkowego i zarodka”, bo przecież „wskaźnik ciąży” to liczba inseminacji konieczna do zacielenia samicy (w tym przypadku krowy). W rozdziale 7., Autorka podaje że „lokalizacja naczynia tętniczego w krążeniu łożyskowo-pępowinowym..” ma wpływ na parametry hemodynamiczne tych naczyń. Lepiej byłoby napisać, że chodzi to o lokalizację tętnicy pępkowej w krążeniu łożyskowopępowinowym.

Generalnie te drobne uwagi nie zmieniają mojej pozytywnej opinii na temat wartości przedłożonej pracy. Ma ona szereg oryginalnych elementów, sam zaś — godny pochwały cel badań rozszerza możliwości wykorzystania tej nowej techniki diagnostycznej w biotechnologii rozrodu małych przeżuwaczy.

Wnioski końcowe

1. Opracowanie ma oryginalny charakter; nie była przy tym przedmiotem jakichkolwiek badań na ten temat w kraju.
2. Całość opracowania jest dobrze udokumentowana, i zawiera cenne elementy poznawcze.
3. Autorka badań posiada wymagane kompetencje do samodzielnego prowadzenia badań naukowych.
4. Badania mogą stanowić interesujący przyczynek i inspirację do dalszych eksperymentów w tym zakresie
5. Uzyskane wyniki mają znaczenie użyteczne

W podsumowaniu. Praca spełnia warunki określone w art. 187 Ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. 2022 poz. 574 z późn. zm), zaś jej Autorka zasługuje na tytuł doktora w dziedzinie nauk rolniczych w dyscyplinie zootechnika i rybactwo.





UNIWERSYTET ROLNICZY

im. Hugona Kollątaja w Krakowie

Wydział Hodowli i Biologii Zwierząt

Katedra Żywienia, Biotechnologii Zwierząt i Rybactwa

Kraków, dnia 3 sierpnia 2023 roku

Dr hab. inż. Maciej Murawski, prof. URK

Tel. 12-429-75-47

Fax: 12-429-75-47

e-mail: rzmmuraw@cyf-kr.edu.pl

Ocena

rozprawy doktorskiej mgr inż. Angeliki Brzozowskiej

pt.

Wykorzystanie ultrasonografii w ocenie przebiegu ciąży i diagnostyce prenatalnej owiec.

wykonanej pod kierunkiem dr hab. inż. Tomasza Stankiewicza, prof. ZUT w Katedrze
Biotechnologii Rozrodu Zwierząt i Higieny Środowiska na Wydziale Biotechnologii
i Hodowli Zwierząt

Zachodniopomorskiego Uniwersytetu Technologicznego w Szczecinie

Owce spośród zwierząt gospodarskich są uważane za najwcześniej udomowione przez człowieka około 10 000 lat temu. W historii ludzkości i rozwoju cywilizacyjnym odegrały one ogromną rolę. Były podstawą i źródłem bogactwa zarówno w starożytności, o czym mówi legenda o wyprawie Argonautów po złote runo jak i świetności choćby średniowiecznej Hiszpanii. To Król Hiszpanii Ferdynand Aragoński dzięki swojej zamożności wynikającej z handlu wełną merynosową, był w stanie sfinansować bardzo kosztowną wyprawę Kolumba w drogę do Ameryki, wtedy jeszcze nieznaną. W późniejszym czasie XVI i XVII wieku z uwagi na rosnące w Europie zapotrzebowanie na sukno produkowane z wełny owczej, powstała konieczność jego wytwarzania na dużą skalę. Przymus ten doprowadził do wynalezienia maszyny tkackiej, co uważane jest za początek rewolucji przemysłowej i główny motor jej rozwoju trwającego do dzisiaj. O ile waga hodowli owiec w wiekach przeszłych jest nie do przecenienia i wydawać by się mogło, że ich rola współcześnie nie jest tak znacząca, to jednak nadal jest ważna oraz silnie zauważalna.

Pogłowie owiec na Świecie nieustannie wzrasta od 15 lat. Oprócz ich znaczenia w zaspokajaniu potrzeb żywieniowych, są również wykorzystywane na dużą skalę, choćby

do ochrony krajobrazu, a także co jest bardzo zauważalne, w badaniach przedklinicznych i biomedycznych z zakresu między innymi ortopedii, szeroko pojętej chirurgii, rozrodu oraz ginekologii. Ich duża przydatność w tego typu badaniach wynika między innymi ze zbliżonej masy owcy do masy człowieka, masy nowonarodzonego jagnięcia do masy noworodka ludzkiego i jeszcze wielu innych cech biologicznych podobnych do tych występujących u ludzi sprawia, że owca jest doskonałym modelem badawczym. Dlatego uważam, że przedłożona do oceny praca mgr Angeliki Brzozowskiej, pt. *Wykorzystanie ultrasonografii w ocenie przebiegu ciąży i diagnostyce prenatalnej u owiec*, obejmuje bardzo aktualną tematykę badawczą i posiada duże znaczenie aplikacyjne. Ponadto, posiada charakter interdyscyplinarny wykraczając poza dyscyplinę zootechnikę i rybactwo, wpisując się także w obszar nauk weterynaryjnych.

Ogólne podsumowanie pracy doktorskiej

Złożona do oceny praca doktorska dotyczy analizy cech morfometrycznych łożyska po porodzie i charakterystyki hemodynamicznej naczyń krwionośnych łożyszczy oraz sznura pępowinowego na wybranych etapach rozwoju ciąży u owiec. Badania przeprowadzono wykonując pomiary morfometryczne i wykorzystując nowoczesną metodę ultrasonografii dopplerowskiej według własnych oryginalnie opracowanych protokołów opisanych w pracach Brzozowska i wsp. z 2020 i 2022 roku, które wspólnie z opisem polskim stanowią przedłożoną do oceny dysertację doktorską. Za cel pracy badawczej Autorka obrała określenie wartości parametrów morfometrycznych łożyska i analizę hemodynamicznego przepływu krwi w krążeniu łożyskowo-pępowinowym, a także możliwości zastosowania obrazowania ultrasonograficznego do wczesnej diagnostyki ciąży u owiec.

Dążąc do realizacji celu głównego Doktorantka wyznaczyła trzy cele szczegółowe:

1. Określenie parametrów morfometrycznych łożysk owczych w zależności od wieku macierek, liczebności miotu, płci i masy urodzeniowej jagniąt.
2. Określenie i porównanie parametrów hemodynamicznych krwi w ultrasonografii dopplerowskiej w naczyniach tętniczych i żylnych zlokalizowanych w części macicznej i płodowej łożyszczy oraz w naczyniach pępowinowych podczas ciąży u owiec.
3. Określenie przydatności obrazowania ultrasonograficznego do wczesnego diagnozowania ciąży u owiec.

W pierwszym etapie badań, realizując wyznaczony cel wykonano analizę morfometryczną łożysk określając ich parametry w zależności od wieku macierek, liczebności miotu, płci i masy urodzeniowej jagniąt. Badania te i obserwacje posłużyły

w drugim etapie do precyzyjnego ustalenia metodyki badania przepływu krwi metodą ultrasonografii dopplerowskiej z uwzględnieniem kolorowego obrazowania hemodynamiki w naczyniach krwionośnych części maczyny i płodowej łożyszczy oraz sznura pępowinowego podczas ciąży u owiec.

W przeprowadzonych badaniach opublikowanych w dwóch artykułach naukowych będących podstawą rozprawy doktorskiej, na podkreślenie zasługuje fakt, że niektóre osiągnięcia badawcze są nowatorskie i zostały opisane po raz pierwszy. Dotyczy to charakterystyki morfometrycznej łożyska ciąż bliźniaczych oraz wykorzystania ultrasonografii dopplerowskiej w wybranych okresach ciąży do szczegółowego opisu hemodynamiki przepływu krwi w naczyniach krwionośnych w części maczyny i płodowej łożyszczy, które pod tym względem, jak dotychczas w tak kompleksowy sposób nie były jeszcze prezentowane w dostępnej literaturze naukowej.

W mojej ocenie najciekawszymi osiągnięciami pracy są:

1. Określenie i ustalenie występowania powiązań pomiędzy parametrami morfometrycznymi łożyska owczego a wiekiem maciorek, liczebnością miotu, płcią i masą urodzeniową jagniąt.
2. Opisanie łożysk ciąż bliźniaczych jedno- i dwułożyskowych (kosmówkowych).
3. Opisanie charakterystyki zmian hemodynamiki w naczyniach łożyskowo-pępowinowych na wybranych etapach przebiegu ciąży u owiec.
4. Wykazanie, że parametry przepływu krwi w tętnicach pępowinowych, liścieniach i części maczyny łożyszczy są skorelowane z wiekiem ciąży.
5. Potwierdzenie wysokiej przydatności ultrasonografii w tym ultrasonografii dopplerowskiej w diagnostyce układu rozrodczego i monitorowaniu przebiegu ciąży u owiec.

Uwagi szczegółowe

1. W Przedłożonej do recenzji rozprawie doktorska pani mgr Angeliki Brzozowska swoje zaangażowanie w jej przygotowanie, w szczególności dwóch opublikowanych prac badawczych, oceniła na 65%. Zawiera ona streszczenie pracy w języku polskim i angielskim, krótki 10 stronicowy opis w języku polskim opatrzone 29 pozycjami literatury oraz dwa opublikowane oryginalne artykuły naukowe. Do dysertacji dołączono również dwa oświadczenia współautorów o procentowym udziale w przygotowaniu poszczególnych publikacji.

Artykuły opublikowano w uznanych czasopismach naukowych, pierwszy w *Large Animal Review* o IF 0,417 i drugi w *BMC Veterinary Research* o IF 2,792. W obu

publikacjach doktorantka jest pierwszą autorką i w pierwszej również autorką korespondencyjną.

Po zapoznaniu się z całością pracy odniosłem jej treść do tytułu, który brzmi „*Wykorzystanie ultrasonografii w ocenie przebiegu ciąży i diagnostyce prenatalnej u owiec.*” Zdaję sobie sprawę, że jest on zatwierdzony i nie podlega jakimkolwiek zmianom. Jednakże z obowiązku oceniającego pracę chciałbym podzielić się uwagą, że w moim przekonaniu tematyka badawcza pracy, co prawda zawiera się w obszarze zakreślonym jej tytułem, jednakże jest on zbyt ogólny i obszerny oraz nie zapowiada tego co znajduje się w treści dysertacji. W tym przypadku o ile pierwsza część tytułu czyli „*Wykorzystanie ultrasonografii w ocenie przebiegu ciąży...*” wiąże się z treścią pracy dość luźno, to jego drugi fragment „*...i diagnostyce prenatalnej u owiec*” jest odzwierciedlony w treści manuskryptu. Dlatego uważam, że temat pracy sformułowany choćby przykładowo w następujący sposób: Cechy morfometryczne łożyska oraz ultrasonograficzna charakterystyka hemodynamiki przepływu krwi w układzie łożyskowo-pępowinowym i diagnostyce prenatalnej owiec.; precyzyjniej odnosiłby się do tematyki i zakresu pracy doktorskiej.

2. **Opis przeprowadzonych badań w języku polskim** jest bardzo ogólny. Streszczenie w języku polskim jest obszerniejsze w treści niż jego odpowiednik w wersji angielskiej. W Streszczeniu brak jest syntetycznego podsumowania i jednoznacznych wniosków, które Doktorantka zastąpiła opisem otrzymanych wyników z przeprowadzonych badań oraz ogólnymi stwierdzeniami i sugestiami np.: „*W badaniach przeprowadzono analizę morfometryczną łożysk pozyskanych po porodzie...*”, lub „*Wykorzystując ultrasonografię dopplerowską przeprowadzono ocenę hemodynamiki w naczyniach łożyskowo-pępowinowych...*”, lub „*Uzyskane wyniki wykazały, że parametry morfometryczne owczych łożysk zależą od wieku maciorek...*”, lub „*Przeprowadzone badania wskazują na możliwość wykorzystania ultrasonografii dopplerowskiej w monitorowaniu hemodynamiki naczyń łożyskowo-pępowinowych podczas ciąży u owiec.*” Ponadto, moim zdaniem w streszczeniu nie zostało wystarczająco mocno uwypuklone niewątpliwe osiągnięcie pracy jakim było ustalenie zależności pomiędzy parametrami przepływu krwi w tętnicach pępowinowych, liścieniach i części matczynej łożyszczy, a wysokością ciąży.

Cel naukowy został prawidłowo wyznaczony z podziałem na trzy cele szczegółowe. Jednakże formułując go Doktorantka posłużyła się skrótem myślowym i nieprecyzyjnymi określeniami pisząc: „*Celem naukowym rozprawy doktorskiej było badanie parametrów morfometrycznych łożyska i ocena przepływów krwi*

w krążeniu łożyskowo-pępowinowym oraz określenie możliwości *wczesnej diagnozy ciąży u owiec* z wykorzystaniem techniki ultrasonograficznej” Parametry jako takie nie podlegają badaniu. Z pracy jednoznacznie wynika, że przedmiotem badań były łożyska owiec uzyskane tuż po porodzie, które mierzono a ich anatomię charakteryzowano. Natomiast parametry ustalano dopiero na podstawie przeprowadzonych pomiarów a następnie poddawano analizie. Ponadto w pracy nie przeprowadzono „...oceny przepływów krwi...”, lecz ten przepływ badano i opisano jego cechy. Ponadto, stwierdzenie „...określenie możliwości wczesnej diagnozy...” jest określeniem stosowanym do opisu wyniku badania, a Doktorantce zapewne chodziło o „diagnozowanie”, która to czynność jest procesem. Dlatego w moim przekonaniu bardziej precyzyjnym byłoby wyrażenie celu, na przykład w następujący sposób: Celem naukowym rozprawy doktorskiej była morfometryczna charakterystyka łożyska i hemodynamicznego przepływu krwi w krążeniu łożyskowo-pępowinowym oraz określenie możliwości wczesnego diagnozowania ciąży u owiec metodą ultrasonograficzną.

Rozdział 5 „Wprowadzenie i uzasadnienie podjęcia badań” w bardzo pobieżny, aczkolwiek syntetyczny sposób i wzbudzający ciekawość, wprowadza czytelnika w istotę i obszar podjętych badań. Rozdział 6 „Metodyka badań, uzyskane wyniki i ich omówienie, rozpoczyna się niepełnym omówieniem metod badawczych, które co prawda w dalszej części pracy są oddzielnie omawiane lecz moim zdaniem nie potrzebnie zostały rozdzielone. Kolejne podrozdziały 6.1, 6.2 i 6.3, są opisem realizacji celów szczegółowych i powinny rozpoczynać się od przywołania ich treści, dzięki czemu czytelnikowi łatwiej byłoby podążać za myślą autorki. Także, ta koncepcja przedstawienia przeprowadzonych badań poprzez skupienie się na celach pracy, niejako wymusiła na Doktorantce sposób prowadzenia myśli utrudniający wszechstronne przedyskutowanie otrzymanych wyników opublikowanych w pracach stanowiących podstawę tej dysertacji. Co prawda elementy dyskusji znajdują się w każdym z tych trzech podrozdziałów, jednakże z uwagi na jej podzielenie utrudniają uchwycenie całości. Opis pracy w języku polskim poprzedzający opublikowane prace powinien stanowić swego rodzaju ich kompilację, w której autorka mogłaby kompleksowo omówić przeprowadzone badania, rozszerzyć wątki, które z uwagi na wymogi redakcyjne czasopism nie zostały w pełni rozwinięte w opublikowanych pracach. Dzięki temu autorka mogłaby potwierdzić i wykazać swoje umiejętności w redagowaniu opracowań naukowych, co w opublikowanych pracach stanowiących rozprawę doktorską jest ich silną stroną. Natomiast czytelnikowi ułatwiło by

wprowadzenie w obszar przeprowadzonych badań i zrozumienie ich istoty. Niewątpliwie, także umieszczenie w opisie dodatkowych fotografii ilustrujących uzyskane osiągnięcia wpłynęło by na ich jaśniejszą prezentację i rozumienie.

Rozdział 7. Podsumowanie i wnioski z uwagi na przemieszanie części opisowej, czyli podsumowania z częścią oznajmującą, czyli wnioskami, czyni tę część mało przejrzystą i przez to utrudnia uchwycenie kwintesencji osiągnięć wynikających z przeprowadzonych badań.

3. **Publikacje stanowiące rozprawę doktorską** były już ocenione przez ekspertów przed ich drukiem. Dlatego też jako recenzent zobowiązany do oceny całej pracy doktorskiej ograniczę się jedynie do komentarza. Natomiast swoje uwagi i chęć zaspokojenia ciekawości odnośnie opublikowanych prac przedstawię w formie pytań skierowanych do doktorantki z prośbą o ustosunkowanie się do nich podczas obrony pracy doktorskiej.

W mojej opinii obie prace stanowią wartościowe opracowania naukowe poszerzające i porządkujące wiedzę w zakresie morfometrii i anatomii łożyska, a także w kompleksowym ujęciu charakterystyki hemodynamiki przepływu krwi w układzie maczyno-łożyskowym, płodowo-łożyskowym i sznurze pępowinowym u owiec. Obiektywnym potwierdzeniem wagi i znaczenia tych publikacji oraz ich zainteresowaniem w środowisku naukowym jest liczba cytowań, która w odniesieniu do pierwszej (Brzozowska i wsp. 2020) i drugiej (Brzozowska i wsp. 2022) wynosi odpowiednio cztery i dwa cytowania. Podzielam opinię Doktorantki i współautorów prac i chciałbym zwrócić szczególną uwagę na fakt, że dzięki badaniom zaprezentowanym w obu publikacjach, oprócz ich praktycznej przydatności w diagnostyce i monitoringu ciąży w hodowli oraz klinice weterynaryjnej u owiec, znacząco poszerzają one możliwość wykorzystania ich jako modelu zwierzęcego. Między innymi w badaniach biomedycznych oraz przedklinicznych owce mogą posłużyć do opracowania procedur zabiegowych i farmakologicznych dotyczących modyfikacji funkcji układu maczyno-łożyskowo-płodowego podczas ciąży.

Moje pytania do **pierwszej publikacji** Brzozowska i wsp. Large Animal Review 2020; 26: 119-126

- 3.1. W rozdziale Material and methods opisano, że do potwierdzenia skuteczności krycia maciorek użyto transrektalnego badania ultrasonograficznego i pomiaru oporności śluzu pochwowego omometrem Damińskiego. Proszę o uzasadnienie ich wyboru i uszczegółowienie tych procedur z podaniem terminu wykonania badań po pokryciu maciorek.

- 3.2. Różnica pomiędzy średnicą liścieni w łożysku owcy może być nawet dwukrotna. Ponadto łączna ich liczba w jednym łożysku może być nawet większa niż sto. Czym kierowała się Doktorantka uznając, że pięć losowo wybranych liścieni będzie wystarczająca do przeprowadzenia reprezentatywnych pomiarów i wyznaczenia ich średniej średnicy?

Druga publikacja Brzozowska i wsp. BCM Veterinary Research 2022 18:326

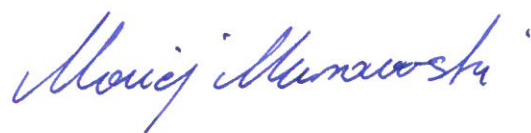
- 3.3. Ciąża u owiec doświadczalnych została zdiagnozowana pomiędzy 20 a 28 dniem po kryciu na podstawie obecności zarodka i błon płodowych. W dyskusji wspomniano, że dodatkowo ultrasonograficznie potwierdzona obecność ciała żółtego (CL) na jajniku może być równie pomocna w diagnostyce ciąży. Natomiast we wnioskach stwierdzono, że ultrasonograficzne zobrazowanie obecności ciała żółtego może być prostą metodą bardzo wczesnego potwierdzenia skutecznego krycia owiec. Proszę o wyjaśnienie i rozwinięcie tej metody i skomentowanie, czy można od 17 dnia po pokryciu i w dalszych dniach, tylko na podstawie jednokrotnego badania stwierdzającego obecność ciała żółtego na jajniku, potwierdzić lub wykluczyć skuteczność krycia owcy? Czy jest to jednak uzupełniające badanie, które można wykonać przy okazji powszechnie stosowanej ultrasonograficznej diagnostyki ciąży u owiec?
- 3.4. Badania przeprowadzono w pięciu wybranych okresach ciąży od 35 do 145 dnia ciąży. Każdy okres badawczy trwał 15 dni. Początek każdego następnego okresu od okresu bezpośrednio go poprzedzającego następował po 20 dniach. Jaki sposób przyjęto do przeprowadzenia badań w poszczególnych okresach, a mianowicie, czy przeprowadzane badania ultrasonograficzne w poszczególnych okresach były wykonane u wszystkich badanych owiec w jednym dniu, czy były to różne terminy, jednakże wyznaczone tak samo, dla każdej maciorki indywidualnie na podstawie liczby dni jaka upłynęła od czasu krycia?
- 3.5. Przeprowadzone badania Doktorantka i współautorzy określili jako wstępne, jednakże są one na tyle kompleksowe i interesujące, że nie sposób zapytać dlaczego nie pokuszono się na określenie zakresu wartości dla wyznaczonych parametrów, które można by uznać za normę w charakteryzowaniu hemodynamiki naczyń układu maciczo-łożyskowo-płodowego u owiec. Czy być może była to liczba zwierząt, czy też inne powody? Proszę o wyjaśnienie.

Podsumowując chcę mocno podkreślić, że przedłożone dwie publikacje stanowiące pracę doktorską Pani **mgr Angeliki Brzozowskiej** łączą się tematycznie i tworzą spójną

całość odnoszącą się do morfometrycznych cech łożyska oraz hemodynamicznych cech przepływu krwi przez łożysko i sznur pępowinowy u płodów owiec w dopplerowskim obrazowaniu ultrasonograficznym. Przeprowadzone badania mają elementy nowatorskie oraz poszerzają stan wiedzy z zakresu anatomii łożyska oraz monitoringu i diagnostyki ciąży u owiec. Moje krytyczne uwagi odnoszą się jedynie do części w języku polskim z uwagi na jej ogólnikowość. Ponadto, mają charakter redakcyjny dotyczący jej układu, poprawności językowej oraz precyzji wyrażania myśli i nie wpływają na ocenę merytoryczną pracy.

W moim przekonaniu przedstawiona do oceny praca doktorska zawiera oryginalne wyniki uzyskane podczas realizacji celu pracy i spełnia wymogi stawiane pracom doktorskim w dyscyplinie zootechnika i rybactwo.

Z uwagi na powyższe stwierdzam, że przedłożona do oceny praca doktorska spełnia warunki określone w art. 187 ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. 2022 poz. 574 z późn. zm.) i wnioskuję do **Rady Dyscypliny Zootechnika i Rybactwo Zachodniopomorskiego Uniwersytetu Technologicznego w Szczecinie** o dopuszczenie Pani **mgr Angeliki Brzozowskiej** do dalszych etapów przewodu doktorskiego.



Dr hab. inż. Maciej Murawski, prof. URK

UCHWAŁA NR 26
Rady Dyscypliny Zootechnika i Rybactwo
Zachodniopomorskiego Uniwersytetu Technologicznego w Szczecinie
z dnia 25 października 2023 r.

w sprawie nadania stopnia doktora nauk rolniczych w dyscyplinie zootechnika i rybactwo
mgr inż. Angelice Brzozowskiej

Na podstawie art. 178 ust. 1 ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz.U. 2023 poz. 742) oraz § 1 ust. 1 pkt 1 2) uchwały nr 130 Senatu Zachodniopomorskiego Uniwersytetu Technologicznego w Szczecinie z dnia 29 maja 2023 r. w związku z § 96 ust. 8 Statutu Zachodniopomorskiego Uniwersytetu Technologicznego w Szczecinie, Rada Dyscypliny Zootechnika i Rybactwo uchwala co następuje:

§1

Rada Dyscypliny Zootechnika i Rybactwo Zachodniopomorskiego Uniwersytetu Technologicznego w Szczecinie po zapoznaniu się z przebiegiem postępowania w sprawie nadania stopnia doktora postanawia nadać stopień doktora nauk rolniczych w dyscyplinie zootechnika i rybactwo mgr inż. Angelice Brzozowskiej.

§2

Uchwała wchodzi w życie z dniem podjęcia.

Przewodnicząca Rady Dyscypliny
Zootechnika i Rybactwo

dr hab. inż. Małgorzata Ożgo, prof. ZUT

Szczecin, dnia 25 października 2023 r.