

Dr hab. prof. nadz. SGGW Aurelia Radzik-Rant

Katedra Szczegółowej Hodowli Zwierząt

Wydział Nauk o Zwierzętach

Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie

### Recenzja

**pracy doktorskiej mgr inż. Anny Wyrostek pt. "Ocena okrywy włosowej i wybranych parametrów krwi psów z uwzględnieniem rasy, pory roku oraz dodatku wielonienasyconych kwasów tłuszczowych" wykonanej pod kierunkiem prof. dr hab. Bożeny Patkowskiej-Sokoły i jako promotora pomocniczego dr inż. Katarzyny Czyż w Instytucie Hodowli Zwierząt Wydziału Biologii i Hodowli Zwierząt Uniwersytetu Przyrodniczego we Wrocławiu.**

Okrywa włosowa zwierząt spełnia różnorodne o wielkim znaczeniu dla organizmu funkcje. Stanowi znakomitą barierę ochronną przed środowiskiem zewnętrznym, bierze udział w termoregulacji, daje możliwość kamuflażu, komunikowania się, a nawet obrony. Pozwala także na identyfikację gatunkową wykorzystywaną między innymi w kryminalistyce, archeologii czy antropologii. Okrywa niektórych gatunków zwierząt służy człowiekowi również jako surowiec włókienniczy. Na szczególną uwagę zasługuje możliwość wykorzystania okrywy włosowej jako materiału diagnostycznego. Będąc wytworem skóry uczestniczy w procesach zachodzących w organizmie znakomicie rejestrując zachodzące w nim zmiany. Często jest lepszym wskaźnikiem jego stanu niż inny wykorzystywany do oznaczeń materiał biologiczny jak krew czy mocz. Okrywa włosowa od kilkudziesięciu lat jest przedmiotem badań naukowych dotyczących zarówno aspektów jej rozwoju na poziomie embrionalnym i postembrionalnym jak i poprzez analizę cech morfologicznych i fizykochemicznych oceny jej jakości, wyglądu i zdrowia zwierząt. Te ostatnie aspekty nabierają coraz większego znaczenia w badaniach zwierząt towarzyszących człowiekowi, do których bez wątpienia należy pies. Prawidłowy wygląd okrywy tych zwierząt jest ważny nie tylko z punktu widzenia estetycznego ale może być oznaką dobrego zdrowia wynikającego z właściwego ich żywienia i utrzymania.

Biorąc powyższe pod uwagę, badania nad wpływem rasy, pory roku oraz dodatku w diecie wielonienasyconych kwasów tłuszczowych z rodziny n-3 i n-6 na okrywą włosową oraz parametry krwi psów podjęte przez mgr inż. Annę Wyrostek wydają się potrzebne i w pełni uzasadnione.

Przedstawiona do oceny rozprawa doktorska liczy łącznie 137 stron maszynopisu. Całość opracowania składa się z siedmiu odrębnych rozdziałów nie licząc wykazu 13 rysunków, 33 fotografii, 21 tabel oraz 13 wykresów. Spis literatury zawiera 166 pozycji piśmiennictwa wykorzystanego w tekście pracy, w znakomitej większości bardzo aktualnego. Należy jednak zwrócić uwagę, iż Autorka nie pominęła kilku bardzo wczesnych pozycji z pierwszej połowy XX wieku, które niewątpliwie dały podwaliny do rozwoju nauki o skórze i okrywie włosowej zwierząt, jak również o roli kwasów tłuszczowych w ich żywieniu. Układ pracy jest poprawny tworzący logiczną całość i umożliwiający zapoznanie się ze wszystkimi aspektami w niej podejmowanymi.

W rozdziale „Wstęp” Autorka przedstawiła przegląd piśmiennictwa zawarty w siedmiu podrozdziałach, w których można odnaleźć uzasadnienie podjętych badań. Dwa pierwsze odnoszą się do zagadnień związanych z badaniami nad okrywą włosową, jej rozwojem, budową morfologiczną i chemiczną włosów i ich cyklami wzrostu. Autorka słusznie wskazała na różnice w długości faz wzrostu włosa w zależności od rodzaju okrywy, co jest związane z procesem linienia, któremu podlega większość ras psów. Proces ten był przedmiotem wielu badań na różnych gatunkach zwierząt, a przytaczając opinie badaczy zupełnie odmienne od zazwyczaj przedstawianych Autorka wskazała na wciąż istniejącą potrzebę ich kontynuacji. Jednak w oznaczeniu opracowanego przez Doktorantkę schematu dobrze wyjaśniającego procesy zachodzące w mieszku włosowym podczas wymiany włosów, zamieszczonego na 19 str. wkradł się błąd. Do opracowania tego schematu chyba wykorzystana była publikacja Milnera i wsp. (2002), a nie jak podała Autorka Alonso i Fuschs (2006). Za to słusznie, że opisu charakterystycznych cech okrywy włosowej psów, która jest odmienna od niektórych gatunków zwierząt, dokonano w odrębnym podrozdziale.

Kolejne cztery podrozdziały zawarte we „Wstępie” zostały poświęcone zagadnieniom dotyczącym roli tłuszczu i poszczególnym rodzinom wielonienasyconych kwasów tłuszczowych (WNKT) w diecie zwierząt. Autorka na podstawie obecnych w literaturze przedmiotu badań wskazała zarówno na korzystne prozdrowotne ich działanie na organizm zwierząt, a zwłaszcza na stan zdrowia skóry, jak również na zagrożenia, co świadczy o nie

bezkrytycznym podejściu Doktorantki do realizowanych badań. Cennym jest przytoczenie przez Autorkę badań, które wskazują na podobieństwo metabolizmu kwasów tłuszczowych u ludzi i psów, co może sugerować możliwość uznania ich za zwierzęta modelowe. Jak słusznym było wyodrębnienie zagadnień dotyczących okrywy włosowej psów, tak również podkreślenie znaczenia estrów etylowych oleju lnianego w oddzielnym podrozdziale dało możliwość doskonałego uzasadnienia wyboru tej formy suplementacji w diecie badanych zwierząt. Szeroka wiedza w zakresie biologii okrywy włosowej i znaczenia tłuszczu, a zwłaszcza kwasów tłuszczowych dla organizmu ludzi i zwierząt jaką wykazała Autorka redagując ten rozdział wskazuje na Jej dojrzałość i bardzo dobre przygotowanie do realizacji podjętych badań.

Założenia metodyczne pracy nie budzą zastrzeżeń. Wprawdzie materiał badawczy jest niewielki, ale wystarczający zwłaszcza w odniesieniu do analizy okrywy włosowej, gdzie każdy badany włos może stanowić odrębny parametr. Biorąc pod uwagę specyfikę badań i gatunek zwierząt na jakim zostały przeprowadzone, liczba 8 psów rasy beagle i 12 psów rasy yorkshire terrier pozwala na przeprowadzenie analizy statystycznej i formułowanie uogólnień i podsumowań. Zwierzęta obu ras były wyrównane wiekowo i przez cały okres trwania doświadczeń miały zapewniony właściwy dobrostan. Przeprowadzono dwa odrębne doświadczenia, pierwsze na psach posiadających dwuwarstwową, liniejącą okrywę rasy beagle w okresie letnim i zimowym, drugie tylko w okresie letnim na psach rasy yorkshire terrier o okrywie jednowarstwowej nieliniejącej. Sposób żywienia i postępowania w obydwu doświadczeniach został opisany bardzo dokładnie. Na pobranych próbach okrywy włosowej psów rasy beagle dokonano: podziału na frakcje, oznaczenia średnicy włókien i cech fizyko mechanicznych, analizy histologicznej włosów, zawartości pierwiastków oraz oznaczenia w sebum okrywy zawartości kwasów tłuszczowych. Ponad to u psów tej rasy wykonano morfologię i oznaczono parametry biochemiczne krwi oraz w surowicy i erytrocytach oznaczono profil kwasów tłuszczowych. Podobne analizy jak na okrywie psów rasy beagle, poza podziałem na frakcje, wykonano na próbach okrywy psów rasy yorkshire terrier. Zastosowane metody analityczne są w większości nowoczesne, bardzo precyzyjne i wymagające właściwego zaplecza technicznego. Niektóre analizy zostały wykonane przez Doktorantkę według Jej własnej koncepcji. Wymagało to dobrego opanowania niezwykle pracochłonnych technik i umiejętności odczytywania wyników. Do opracowania uzyskanych rezultatów wykorzystano aktualne i prawidłowe metody statystyczne.



Zapoznając się z opisem założeń metodycznych nasuwają się jednak pewne pytania i uwagi:

- Zarówno w tab. 2 jak w tab. 5 nie podano jednostek zawartości kwasów tłuszczowych. Jaka zatem przeciętnie ilość karmy była podawana psom w obydwu doświadczeniach, żeby łącznie z suplementacją stosunek kwasów ALA do LA był jak najbardziej zbliżony do 1:1?
- Dlaczego w karmie stosowanej w doświadczeniu 1 i doświadczeniu 2 podano wartość stosunku LA: ALA, a w estrach kwasów tłuszczowych oleju lnianego odwrotnie wartość stosunku ALA: LA (tab.3 i tab.6)?
- Czy przy pomiarach średnicy włosów w obliczeniach pozwalających na konwertowanie szerokości włosa, jaką uzyskuje się z obrazu pod mikroskopem projekcyjnym, na średnicę włosa uwzględniono wykonywanie ich przy 400x powiększeniu? Zazwyczaj wszystkie normy dotyczące pomiarów metodą mikroprojekcyjną zalecają 500x powiększenie.
- Dla jakiej ilości włosów oznaczano wartość indeksu rdzenia i określono liczbę łusek na 1 mm długości?

Wyniki z przeprowadzonych badań, ich interpretację i dyskusję Autorka przedstawiła w dwóch rozdziałach: „Wyniki” i „Omówienie wyników i dyskusja”. W obydwu rozdziałach w zasadzie została zachowana kolejność zaplanowanych badań, chociaż Autorka rozpoczęła ich opis od badań histologicznych, a dopiero w następnej kolejności przedstawiła cechy fizykomechaniczne. W omawianiu wyników kolejność jest już zgodna z założeniami metodycznymi. Rezultaty bardzo ciekawych badań histologicznych prezentowane są na fotografiach z mikroskopu skaningowego i optycznego oraz w tabeli zawierającej dane liczbowe i opis porównujący analizowane typy włosów obydwu badanych ras psów. Dodatkowo, dla lepszego zobrazowania występowania tak różnic jak i podobieństw w budowie histologicznej włosów w okrywie różnych ras psów oraz w okrywie innych gatunków bliskich psu domowemu, zostały zaprezentowane rezultaty uzyskane przez innych autorów w opracowanej przez Doktorantkę tabeli zamieszczonej w rozdziale „Omówienie wyników i dyskusja”.

Poprawę kondycji włosów pod wpływem podawania w diecie estrów etylowych wielonienasyconych kwasów tłuszczowych z grup omega-6 i omega-3 zarejestrowano na powierzchni włosów w postaci mniej licznych uszkodzeń kutikuli. Analiza cech fizycznych

dwuwarstwowej okrywy badanych psów rasy beagle wskazała na różnice w masie włókien oraz ich grubości zarówno w zależności od pory roku jak i w wyniku suplementacji. Na udział w diecie estrów etylowych kwasów tłuszczowych nie reagowała średnica włosów w okrywie psów rasy yorkshire terrier, podobnie jak parametry wytrzymałościowe okrywy obydwu badanych ras. Wykazano natomiast różnice w wytrzymałości włosów pokrywowych beagla i yorkshire terrier, które Autorka tłumaczy różnicą w średnicy tych włókien, które zarejestrowano pomiędzy tymi rasami.

Analiza zawartości pierwiastków na powierzchni włosa, oraz analiza zawartości kwasów tłuszczowych w sebum okrywy włosowej przeprowadzona przez Doktorantkę wskazała na potencjał okrywy włosowej jako materiału diagnostycznego. Zmiany w zawartości kwasów tłuszczowych pod wpływem suplementacji kwasów z rodziny n-3 rejestrowane w sebum były porównywalne do tych notowanych w błonach erytrocytów i surowicy. W przypadku kwasu ALA zmiany w sebum były wyraźniejsze i utrzymujące się na wyższym poziomie po upływie 8 tygodni od stosowania estrów etylowych oleju lnianego w porównaniu do oznaczeń wykonanych w krwi. Szczególnie ciekawe są wyniki potwierdzające możliwość konwersji kwasów EPA i DHA z kwasu ALA zarejestrowane w okrywie włosowej, erytrocytach i surowicy przy zapewnieniu w diecie stosunku LA do ALA na poziomie zbliżonym do 1:1. Po analizie przedstawionych rozdziałów nasuwają się pewne uwagi:

- zaprezentowane w pracy fotografie, szczególnie dotyczące budowy warstwy korowej i rdzenia można było dokładniej oznaczyć (fot. 7 i fot. 17), umożliwiłoby to lepiej dostrzec różnice pomiędzy rodzajami rdzenia występującego w analizowanych włosach
- w tabeli 9 dotyczącej ilości włosów warstwy okrywowej i podszerstka podano tylko jedną wartość tak dla okrywy letniej jak i zimowej bez uwzględnienia okresów badawczych. Na różnice w masie włókien zależnie od pory roku może mieć wpływ zarówno ich grubość jak i ilość. Z kolei suplementacja estrami etylowymi oleju lnianego mogła mieć wpływ na zwiększoną aktywność w jednym mieszku włosowym wyrażającą się zwiększeniem średnicy włosów jak też mogła przyczyniać się do uaktywniania się włosów uśpionych. Czy zatem wartości podane w tabeli są średnimi z poszczególnych okresów, czy też nie obserwowano różnic pomiędzy dniem 0, 56 i 112 w liczbie włosów podzielonych na frakcje
- wydaje się, że większy wzrost grubości włosów pod wpływem suplementacji w okresie letnim w porównaniu do okresu zimowego mógł być bardziej wynikiem



fotoperiodyzmu związanego ze zmianą w objętości cebulki i brodawki włosowej niż tylko działaniem powstałych z kwasów n-3 eikozanoidów stymulujących wzrost i podział komórek czy też wzmożonym działaniem pod wpływem wyższej temperatury hormonów tarczycy

- w tabelach zawierających wyniki dotyczące kwasów tłuszczowych oznaczanych w sebum włosów, surowicy i erytrocytach nie podano jednostek w jakich określono ich zawartość
- przy omawianiu wyników korzystniejszym byłoby ograniczenie powtórzeń w tekście niektórych wartości odnośnie zmian zawartości kwasów tłuszczowych wyrażonych w procentach, wcześniej już podanych w opisie wyników jak również wartości, które są zawarte w tabelach

Rozdział „Stwierdzenia i wnioski” składa się z 13 akapitów, w których Autorka podsumowała przeprowadzone badania odzwierciedlając w nich założenia i postawiony cel dysertacji. Niektóre stwierdzenia można byłoby połączyć nadając większej zwięzłości temu rozdziałowi. Sugestię tę pozostawiam jako dyskusyjną. Dwa ostatnie podkreślone akapity stanowią raczej osobiste refleksje i sugestie wysunięte przez Autorkę niż jednoznaczne wnioski, które ze względu na złożoność podjętych w badaniach zadań trudno było ostatecznie wysunąć. Pewne niezręczności w sformułowaniu niektórych stwierdzeń, podobnie jak i nieliczne uwagi redakcyjne zostaną przekazane bezpośrednio Autorce.

Podsumowując całość oceny stwierdzam, że mgr inż. Anna Wyrostek wykazała się bardzo dobrą znajomością w zakresie podejmowanej w dysertacji problematyki badawczej. Znakomicie opanowała metody i warsztat badawczy poprzez umiejętne odczytanie uzyskanych wyników i właściwą ich interpretację. Przeprowadzone badania wnoszą nowe elementy poznawcze i wzbogacają wiedzę w zakresie biologii okrywy włosowej badanych ras psów tak w zakresie budowy histologicznej włosów jak i cech fizykomechanicznych. W pracy udowodniono korzystny wpływ estrów etylowych wielonienasyconych kwasów tłuszczowych na zmiany profilu kwasów tłuszczowych w sebum włosów, błonach erytrocytów oraz surowicy krwi. Na szczególną uwagę zasługuje potwierdzenie możliwości konwertowania kwasów w organizmie poprzez stosowanie właściwej diety.

Otrzymane przez Doktorantkę wyniki badań mogą być inspiracją dla innych badaczy do podejmowania nowych wyzwań w zakresie rozwoju i oceny okrywy włosowej i roli tłuszczów w diecie ludzi i zwierząt, co jak sama Autorka nazwała jest niekończącą się opowieścią.

Reasumując uważam, że oceniana praca pt. "Ocena okrywy włosowej i wybranych parametrów krwi psów z uwzględnieniem rasy, pory roku oraz dodatku wielonienasyconych kwasów tłuszczowych" spełnia wymogi stawiane rozprawom doktorskim określonym w Ustawie o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule z zakresu sztuki z dnia 14 marca 2003 roku (Dz. U. Nr 65, poz. 595, Dz. U. z 2005 r. Nr 164, poz. 1365 oraz Dz. U. z 2011r. nr 84, poz. 455). Biorąc powyższe pod uwagę występuje do Wysokiej Rady Wydziału Biologii i Hodowli Zwierząt Uniwersytetu Przyrodniczego we Wrocławiu o dopuszczenie pani mgr inż. Anny Wyrostek do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Warszawa 29.08.2018 r.

Aurelia Radzik-Rant

