



**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 zootechnika 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 maczynej 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 skorelowana 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 opatrzony 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 mierzone 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 Dramińskiego. 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?

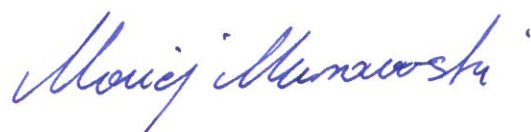
3.5. Przeprowadzone badania Doktorantka i współautorzy określili jako wstępne, jednakże są one na tyle kompleksowe i interesujące, że nie sposób zapytać dlaczego nie pokuszono się na określenie zakresu wartości dla wyznaczonych parametrów, które można by uznać za normę w charakteryzowaniu hemodynamiki 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