

dr hab. Agnieszka Noszczyk-Nowak, prof. UPWr

Katedra Chorób Wewnętrznych z Kliniką Koni, Psów i Kotów

Wydział Medycyny Weterynaryjnej

Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu

agnieszka.noszczyk-nowak@upwr.edu.pl

Ocena rozprawy doktorskiej **lek. wet. Marka Kulki**

„Przydatność oznaczania aktywności paraoksonazy 1 (PON1) w monitorowaniu stanu zdrowia i choroby u wybranych gatunków zwierząt”

Z

Wydziału Medycyny Weterynaryjnej

Szkoły Głównej Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie

Wprowadzenie

Stres oksydacyjny czyli brak równowagi między powstawaniem wolnych rodników, a ich neutralizacją poprzez układy antyoksydacyjne towarzyszy wielu chorobom przewlekłym, w tym niewydolności serca oraz zaburzeniom metabolicznym. Reaktywne formy tlenu i azotu prowadzą do peroksydacji lipidów, modyfikacji kwasów nukleinowych oraz nieodwracalnego uszkodzenia białek, co w konsekwencji może prowadzić do śmierci komórki. Jednym z enzymów biorących udział w ochronie struktur komórki przed uszkodzeniem wolnorodnikowym jest paraoksonaza 1.

Rozprawa doktorska lekarza weterynarii Marka Kulki „Przydatność oznaczania aktywności paraoksonazy 1 (PON1) w monitorowaniu stanu zdrowia u wybranych gatunków zwierząt”, poświęcona ocenie roli jaką odgrywa oznaczanie aktywności paraoksazonowej i arylesterazowej paraoksonazy 1 (PON1) oraz standaryzowanej aktywności PON1 w monitorowaniu stanu zdrowia w cyklu produkcyjnym krów mlecznych różnych ras oraz w diagnostyce stopnia zaawansowanie niewydolności serca na tle zwyrodnienia zastawki mitralnej u jamników. Jest to ważny głos w rozważaniach nad rolą stresu oksydacyjnego w zaburzeniach metabolicznych, związanych z cyklem produkcyjnym krów mlecznych oraz w niewydolności serca psów. Głos tym cenniejszy, bo oparty o materiał kliniczny. Przedstawione rozważania pokazują, że stres oksydacyjny łączy te dwa, pozornie odległe zagadnienia, jakim są zaburzenia metaboliczne u krów mlecznych i niewydolność serca u psów. W obu stanach dochodzi do zaburzeń funkcji układu oksydoredukcyjnego i wystąpienia stresu oksydacyjnego.

Omówienie pracy doktorskiej

Przedstawiona do oceny rozprawa składa się z cyklu 3 prac oryginalnych i 1 pracy przeglądowej, opublikowanych w czasopiśmie z listy JCR - Pol J Vet Sci w latach 2014-2017. We wszystkich pracach doktorant jest pierwszym autorem. Sumaryczny IF przedstawionych publikacji, zgodny z rokiem opublikowania wynosi 2.695, a suma punktów MNI SZW 80. W skład rozprawy wchodzi także czytelne streszczenie w języku polskim i angielskim, wykaz skrótów, obszerny wstęp oraz oświadczenia współautorów publikacji, co do ich indywidualnego wkładu pracy.

We wstępie Doktorant omawia szczegółowo charakterystykę paraoksonaz, ze szczególnym uwzględnieniem budowy, struktury i funkcji oraz substratów i polimorfizmu PON1. Następnie omówione zostały pokrótce zagadnienia stresu oksydacyjnego, roli PON1 w systemie antyoksydacyjnym i możliwości wykorzystania PON1 w diagnostyce laboratoryjnej. Na koniec tego rozdziału doktorant opisuje rolę stresu oksydacyjnego w cyklu produkcyjnym krów mlecznych oraz w niewydolności serca na tle

zwyrodnienia zastawki mitralnej u jamników. Wstęp, co zasługuje na podkreślenie, jest w dużej części tłumaczeniem monoautorskiej publikacji przeglądowej opublikowanej w 2017 roku w Pol J Vet Sci, wchodzącej w cykl pracy doktorskiej. Potwierdza to dobre przygotowanie teoretyczne doktoranta i dużą znajomością przedmiotu.

Cele pracy

Doktorant podjął się określenia zmian aktywności paraoksazonowej i arylesterazolowej paraoksonazy 1 oraz standaryzowanej aktywności PON1 czyli stosunku aktywności paraoksazonowej i stężenia frakcji HDL cholesterolu, przydatności diagnostyczne oznaczeń aktywności PON1 w porównaniu do oznaczania aktywności dysmutazy ponadtlenkowej u krów różnych ras w różnych okresach produkcyjnych. Ostatnim celem, jaki postawił sobie Doktorant, była ocena przydatności aktywności paraoksazonowej i arylesterazolowej paraoksonazy 1 oraz standaryzowanej aktywności PON1 u jamników z różnym stopniem zaawansowania zmian zwyrodnieniowych zastawki mitralnej. Cele pracy zostały sprecyzowane jasno, a biorąc pod uwagę niewielką ilość piśmiennictwa z tego zakresu, są one także ambitne i nowatorskie.

Materiał i Metody

Mimo, że każda opublikowana praca zawiera opis materiałów i metod, Doktorant przybliży je w osobnym podrozdziale. Przedstawiona liczebność grup badanych oraz metodyka oznaczeń jest prawidłowa i poparta stosowną literaturą. Przedstawiono też informację o stosownej zgodzie Lokalnej Komisji Etycznej na badania poszczególnych grup krów oraz jej niewymagalności w stosunku do grupy psów z niedomykalnością zastawki mitralnej.

Omówienie opublikowanych prac

Kolejną część przedstawionej do oceny rozprawy doktorskiej stanowi omówienie opublikowanych prac. W tym podrozdziale Doktorant podsumowuje najważniejsze wyniki przeprowadzonych przez siebie badań, a następnie opublikowanych w cyklu prac oryginalnych.

W pierwszej z cyklu prac „Serum paraoxonase-1 activity of dairy Holstein-Friesian cows in different lactation stages--preliminary study” Doktorant stwierdził różnice w aktywności PON1 u krów, w różnych okresach produkcyjnych. Analiza statystyczna została wykonana testem t-Studenta. Jest to test dla danych parametrycznych o rozkładzie normalnym. Wydaje się, że bardziej odpowiednim testem dla małych grup (n=10), gdzie zazwyczaj dane nie mają rozkładu normalnego (brak potwierdzenia

normalności rozkładu danych w niniejszej publikacji), są testy nieparametryczne. Zostały one wykorzystane do analizy statystycznej danych w dwóch pozostałych pracach, co jest w pełni poprawne. Przyjęty poziom istotności statystycznej uważam za wystarczający.

W kolejnej pracy „Serum paraoxonase 1 (PON1) activity and lipid metabolism parameters changes in different production cycle periods of Holstein-Friesian, Polish Red and Norwegian breeds” Doktorant wykazał istotnie różną aktywność PON1 w różnych okresach produkcyjności u krów o różnej wydajności mlecznej, stwierdził brak trimodalnego modelu stosunku aktywności paraoksonazowej do arylesterazolowej, co świadczyć może o braku polimorfizmu PON1 i potwierdził przydatność oznaczania aktywności PON1 w monitorowaniu stanu zdrowia krów mlecznych.

W ostatniej z cyklu publikacji „Serum paraoxonase 1 activity and lipid metabolism parameter changes in Dachshunds with chronic mitral valve disease. Assessment of its diagnostic usefulness” Doktorant określił różnice aktywności PON1 po między psami zdrowymi, a psami w bezobjawowej i objawowej fazie niewydolności serca na tle niedomykalności zastawy mitralnej i potwierdził tym samym przydatność oznaczeń standaryzowanej aktywności PON1 do różnicowania psów zdrowych i psów w fazie bezobjawowej choroby. Ujęte w tabelach wyniki dotyczące aktywności PON1 u psów zdrowych stanowią swoistą wartość referencyjną dla tych parametrów. Warto byłoby w przyszłości rozszerzyć badania o inne rasy psów i określić czułość i swoistość w/w testów do dyskryminacji zwierząt w bezobjawowej fazie niewydolności serca.

W obszernych dyskusjach Doktorant omawia wynik swoich badań w świetle prac innych autorów. W omówieniu uwagę przyciąga przekonujące rozumowanie, trafne obserwacje jak i konsekwentny oraz logiczny ciąg wyводу, potwierdzający rzetelność i dojrzałość badacza. Zwraca uwagę wyważona i przemyślana interpretacja wyników badań własnych w świetle wyników innych autorów.

Wnioski

Na podstawie przeprowadzonych badań Autor wyciągnął 3 prawidłowo sformułowane wnioski, oparte na uzyskanych wynikach. Wnioski dotyczące przydatności oznaczania aktywności PON1 w pierwszym tygodniu po porodzie u krów mlecznych oraz u psów z niedomykalnością zastawki mitralnej mogą mieć istotne implikacje kliniczne w przyszłości.

Piśmiennictwo we wszystkich pracach, będących podstawą Dysertacji, ma typowy układ i jest współczesne i prawidłowo dobrane.

Podsumowanie

W podsumowaniu opinii wysoko oceniam przygotowanie teoretyczne Doktoranta, umiejętność postawienia problemu badawczego i jego realizacji. Sposób przeprowadzenia badań, różnorodność analizowanych parametrów, przedstawienie wyników i ich interpretacja dowodzi nie tylko dobrej znajomości przedmiotu badań, ale także dużej dojrzałości Doktoranta jak adepta pracy naukowej. Przedstawiona dysertacja stanowi na pewno dobry krok w kierunku poszerzenia panelu diagnostycznego z zakresu stresu oksydacyjnego u zwierząt, zwłaszcza w aspekcie implikacji klinicznych.

Rozprawa doktorska lekarza weterynarii Marka Kulki „Przydatność oznaczania aktywności paraoksonazy 1 (PON1) w monitorowaniu stanu zdrowia u wybranych gatunków zwierząt” spełnia w mojej ocenie wymogi stawiane rozprawom na stopień doktora nauk weterynaryjnych, a określone w art. 13 ust. 1 ustawy o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule naukowym w zakresie sztuki (Dz. U. Nr 64, poz. 595, ze zm.). Na tej podstawie przedstawiam Wysokiej Radzie Wydziału Medycyny Weterynaryjnej Szkoły Głównej Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie wniosek o dopuszczenie Doktoranta do dalszych etapów przewodu doktorskiego i wyróżnienie rozprawy doktorskiej.

Wrocław. 12.02.2018



Dr hab. Agnieszka Noszczyk-Nowak, prof. UPWr